

**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE PÚBLICA

**SEGURANÇA ALIMENTAR NA RESTAURAÇÃO DE EVENTOS: AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DE PREPARAÇÕES CULINÁRIAS EM DIFERENTES TEMPOS DE
EXPOSIÇÃO**

Trabalho submetido por
Joana Isabel Xavier Ferreira
para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde Pública



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

**MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE
PÚBLICA**

**SEGURANÇA ALIMENTAR NA RESTAURAÇÃO DE EVENTOS:
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PREPARAÇÕES
CULINÁRIAS EM DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO**

Trabalho submetido por
Joana Isabel Xavier Ferreira
para a obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde
Pública

Trabalho orientado por
Doutor Carlos Fernando Santiago Brandão

Novembro de 2014

AGRADECIMENTOS

A execução deste trabalho só foi possível graças à colaboração de muitas pessoas e algumas instituições. A todos quantos, direta ou indiretamente, contribuíram para a sua realização, gostaria de expressar o meu mais sincero agradecimento e, em particular:

À Ibergourmet - Produtos Alimentares, S.A. (Portugal) por me ter permitido realizar este trabalho e pela cedência das amostras;

Ao Laboratório de Microbiologia da Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril (ESHTE) (Portugal) onde foi realizado o trabalho laboratorial;

Ao Professor Doutor Carlos Brandão por tudo quanto me ensinou, pela orientação que deu ao trabalho e pelo apoio e incentivo constante e por ter aceitado orientar a realização desta dissertação;

À Professora Doutora Marta Castel-Branco por todo o apoio e esclarecimentos prestados no tratamento estatístico dos resultados e pelo incentivo;

Ao Mestre Eduardo Oliveira pela disponibilidade e por todo o apoio e esclarecimentos prestados no tratamento estatístico dos resultados e pelo incentivo;

Às estagiárias Cátia Mestre e Carla Teixeira da ETGI (Escola de Tecnologia e Gestão Industrial) da AESBUC (Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica) pela recolha das amostras e execução do trabalho laboratorial;

À Técnica de Laboratório da ESHTE (Portugal) Cátia Morgado por todo o apoio que deu na realização do trabalho laboratorial;

A todos os colaboradores da Ibergourmet e da empresa de *catering* que sempre estiveram disponíveis para me auxiliar, dos quais destaco a Carina Fidalgo e o Engenheiro Pedro Catarino.

À Mestre Maria Isabel da Silva Santos pela ajuda na revisão da dissertação e por todo o apoio e amizade, pois sem eles nunca teria escrito e concluído esta tese;

Aos meus amigos que com a sua amizade e companheirismo me ajudaram a ultrapassar os momentos de desânimo;

A toda a minha família, aos que estão e aos que já partiram, pois todos contribuíram para aquilo que sou e, em especial, aos meus pais, irmã, cunhado, sobrinhos, avó, Miguel e filho que com o seu amor sempre estiveram presentes.

RESUMO

A implementação de Sistemas de Gestão da Segurança Alimentar na “restauração de eventos” é complexa pelas próprias características da atividade, pelo que estabelecer e validar um tempo máximo de exposição a temperatura não controlada dos alimentos na restauração de eventos, simplificaria em muito a mesma. Este foi o objetivo principal deste estudo.

Após seleção das preparações culinárias de risco, foram recolhidas amostras das mesmas durante a realização de eventos, em diferentes tempos de exposição. De seguida, no laboratório, a qualidade microbiológica destas amostras foi avaliada relativamente aos seguintes critérios: contagem de mesófilos a 30°C (CAM), contagem de *Enterobacteriaceae* e contagem de *E. coli*.

De um modo geral, encontrámos uma elevada percentagem de unidades amostrais não satisfatórias para as contagens de mesófilos (77,7%) e para as contagens de *Enterobacteriaceae* (43,6%). Para o parâmetro contagem de *E. coli* é que encontrámos uma elevada percentagem (94,3%) de unidades amostrais satisfatórias.

Ao longo do tempo de exposição, no geral, não se observaram progressões quantitativas bacterianas estatisticamente significativas, contudo, podemos concluir que o que afeta mais a qualidade microbiológica das preparações culinárias na “restauração de eventos” é a sua qualidade inicial.

De fato, os resultados obtidos para as contagens microbiológicas neste estudo indicam a necessidade de analisar o Sistema de Gestão da Segurança Alimentar implementado na cozinha central da empresa de “catering”, de modo a detetar e corrigir as suas falhas, pois obtivemos um elevado número de unidades amostrais não satisfatórias no início da exposição a temperatura não controlada (T_0) para as contagens de mesófilos e de *Enterobacteriaceae*.

Palavras-chave: “restauração de eventos”, segurança alimentar, qualidade microbiológica, CAM, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*

ABSTRACT

Implementation of Food Safety Management Systems (HACCP) in the "catering industry" is complex by its own activity characteristics, so establish and validate a maximum time of exposure to uncontrolled temperature of food in the events, simplify much the same. This was the main objective of this study.

After selection of culinary risk preparations, samples were collected during the course of events at different exposure times. Then, at the laboratory, the microbiological quality of these samples was evaluated on the following criteria: total viable count (TVC), *Enterobacteriaceae* count and *E. coli* count.

In general, we have found a high percentage of unsatisfactory samples for TVC (77,7 %) and for *Enterobacteriaceae* count (43,6 %). For the *E. coli* count parameter is that we found a high percentage (94.3%) of satisfactory sample units.

During the exposure time, in general, there were no statistically significant quantitative bacterial progressions; however, we can conclude that what most affects the microbiological quality of the culinary preparations in the catering is its initial quality.

In fact, the results obtained for microbiological counts in this study indicate the need to analyze the Food Safety Management System implemented in the central kitchen of the catering company in order to detect and correct its faults, as we have obtained a large number of sample units not satisfactory at the beginning of exposure to uncontrolled temperature (T_0) for TVC and *Enterobacteriaceae* counts.

Keywords: catering, food safety, microbiological quality, TVC, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*

ÍNDICE

Resumo.....	4
Abstract.....	5
Lista de Tabelas.....	8
Lista de Figuras.....	9
Lista de Abreviaturas.....	10
I- INTRODUÇÃO.....	11
I.1. Enquadramento.....	11
I.2. Caraterização da atividade de “catering” / tipos de “catering”.....	11
I.2.1. Caraterização dos serviços de restauração de eventos e conceito de “catering”.....	11
I.2.2- Tipo de sistemas de distribuição de refeições na restauração de eventos..	12
I.2.3- Sistemas de produção utilizados no “catering”.....	13
I.2.3.1. “Cook-chill”.....	16
I.2.3.2. “Cook-freeze”.....	18
I.2.3.3. “Sous-vide”.....	18
I.3. Perigos veiculados pelos alimentos.....	19
I.4. Doenças de origem alimentar (DOA).....	21
I.4.1. Fatores associados à ocorrência de DOA na restauração.....	23
I.4.2. Incidência das DOA nos EUA e na Europa.....	25
I.4.3. Doenças de origem alimentar em Portugal.....	26
I.5. Conceitos de segurança alimentar e higiene alimentar.....	27
I.5.1. HACCP.....	28
I.5.2. Monitorização de PCC’s na restauração de eventos.....	29
I.6. Microrganismos indicadores de Qualidade e Higiene alimentar.....	29
I.7. Objetivos do estudo.....	30
I.7.1- Evolução da flora microbiana ao longo do tempo de exposição.....	31
II- MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
II.1. Materiais.....	35
II.2. Métodos.....	35
II.2.1. Definição do plano de amostragem.....	35
II.2.1.1. Seleção dos locais e do mês de realização dos eventos.....	35

II.2.1.2. Seleção das preparações culinárias.....	35
II.2.1.3. Classificação das amostras.....	36
II.2.2. Avaliação microbiológica.....	36
II.2.3. Colheita das amostras.....	37
II.2.3.1. Tempos de recolha.....	37
II.2.3.2. Condições de recolha e transporte.....	38
II.2.3.2.1. Colheita das amostras.....	39
II.2.3.2.2. Transporte das amostras para análise microbiológica.....	39
II.2.4. Preparação das amostras para análise.....	39
II.2.5. Realização das análises microbiológicas.....	40
II.2.5.1. Contagem de microrganismos a 30°C.....	40
II.2.5.2. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	40
II.2.5.3. Contagem de <i>Escherichia coli</i>	40
II.2.6. Tratamento dos resultados.....	41
III. RESULTADOS.....	43
III.1. Estatística descritiva: caracterização da amostra em estudo.....	43
III.2. Relação entre as variáveis resposta e a temperatura ambiente.....	46
III.3. Comparação das variáveis resposta nos diferentes subgrupos de alimentos.....	48
III.4. Variáveis resposta categorizadas ao longo do tempo de exposição.....	53
III.5. Avaliação da Qualidade Microbiológica das Preparações culinárias.....	56
III.6. Análise da preparação culinária “carpaccio”.....	57
IV- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	60
CONCLUSÕES.....	67
BIBLIOGRAFIA.....	69
ANEXOS.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Questões a considerar antes de implementar o método “cook-chill”/ “cook-freeze” (adaptado de FSAI, 2006a).....	14
Tabela 2 – Associações comuns entre agentes patogénicos e alimentos (adaptado de FSAI 2006b).....	20
Tabela 3 – Efeito das características da composição dos alimentos na resistência ao calor dos patogénicos em geral (adaptado FSAI 2006b).....	21
Tabela 4 – Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer (Fonte: Santos <i>et al.</i> , 2005).....	34
Tabela 5 – Grupos de alimentos de acordo com os Valores-Guia do INSA (Fonte: Santos <i>et al.</i> , 2005).....	35
Tabela 6 – Meios de cultura usados nas análises microbiológicas.....	
Tabela 7 – Distribuição das preparações culinárias analisadas pelos Grupos dos “Valores Guia” do INSA.....	
Tabela 8 – Tempos de recolha das amostras das preparações culinárias.....	
Tabela 9 – Caracterização das variáveis usadas no tratamento estatístico dos resultados..	
Tabela 10 – Caracterização das variáveis resultantes da logaritmização das variáveis resposta.....	
Tabela 11 – Caracterização das variáveis resultantes da categorização das variáveis resposta.....	
Tabela 12 – Estatística descritiva dos resultados.....	
Tabela 13 – Comparação entre subgrupos para a variável resposta “logmesófilos”.....	
Tabela 14 - Comparação entre subgrupos para a variável resposta “logenterobactérias”...	
Tabela 15 – Tabela de frequências das variáveis resposta categorizadas.....	
Tabela 16 – Associação entre a “contagem de mesófilos” e o “tempo de exposição” para cada grupo de alimentos.....	
Tabela 17 - Associação entre a “contagem de enterobactérias” e o “tempo de exposição” para cada grupo de alimentos.....	
Tabela 18 - Associação entre a “contagem de <i>E. coli</i> ” e o “tempo de exposição” para cada grupo de alimentos.....	
Tabela 19 – Qualidade global das amostras por grupo de alimentos.....	
Tabela 20 – Ordenação das amostras em função do número de parâmetros microbiológicos não satisfatórios.....	
Tabela 21 – Estatística descritiva dos resultados obtidos para a preparação culinária “carpaccio” de salmão.....	
Tabela 22 – Associação entre a “contagem de mesófilos”, a “contagem de enterobactérias” e o “tempo de exposição” para a preparação culinária “carpaccio” de salmão.....	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do método “cook-chill” (FSAI, 2006).....	16
Figura 2 – Fluxograma de recolha, transporte e armazenamento de amostras.....	38
Figura 3 – Fluxograma de tratamento das amostras para análise microbiológica.....	39
Figura 4 – Fluxograma que resume o procedimento para a pesquisa “Contagem de microrganismos a 30°C”	40
Figura 5 – Fluxograma que resume o procedimento para a pesquisa “Contagem de enterobactérias”	40
Figura 6 – Fluxograma que resume o procedimento para a pesquisa “Contagem de <i>E. coli</i> ”	40
Figura 7 – Distribuição das frequências para a variável “Mês”	43
Figura 8 – Distribuição das frequências para a variável “Grupo”	44
Figura 9 – Distribuição da(s) variável(eis) resposta pelos diferentes meses.....	44
Figura 10 – Distribuição das amostras de cada grupo de alimentos para cada parâmetro analisado.....	45
Figura 11 – Gráfico de dispersão para a variável “logmesófilos” e para o grupo I.....	47
Figura 12 – Gráfico de dispersão para a variável “logmesófilos” e para o grupo II.....	47
Figura 13 – Gráfico de dispersão para a variável “logmesófilos” e para o grupo III.....	47
Figura 14 – Gráfico que compara as médias da variável “logmesófilos” entre subgrupos de alimentos.....	50
Figura 15 – Gráfico que compara as médias da variável “logenterobacterias” entre subgrupos de alimentos.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

APT:	Água Peptonada Tamponada
°C:	Grau Celsius
CAC:	<i>Codex Alimentarius Commission</i>
CAM:	Contagem de Aeróbios Mesófilos
CDC:	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
DOA:	Doenças de Origem Alimentar
ECDC:	<i>European Center for Disease Control and Prevention</i>
FAO:	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA:	<i>Food and Drug Administration</i>
FERCO:	<i>European Agency for Safety and Health at Work</i>
FSAI:	<i>Food Safety Authority of Ireland</i>
INSA:	Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
ISO:	<i>International Organization for Standardization</i>
MAP:	<i>Modified Atmosphere Packed</i> (embalados em atmosfera modificada)
NSAI:	National Standards Authority of Ireland
OSHA:	<i>European Federation of Contract Catering Organizations</i>
TBX:	Triptona Bile Glucuronídeo
VP:	<i>Vacuum Packed</i> (embalados a vácuo)
WHO:	<i>World Health Organization</i>

I. INTRODUÇÃO

I.1. Enquadramento

O setor da hotelaria e do “Catering”, que engloba hotéis, restaurantes, estabelecimentos de “fast-food”, empresas de “Catering”, cafés e bares é uma importante fonte de emprego no setor dos serviços e contribui para o crescimento da economia portuguesa (OSHA, 2008). A importância do mesmo setor na Europa é confirmada por um volume anual de negócios de 24 mil milhões de euros e a garantia de 600.000 postos de trabalho, mais do que uma refeição ingerida fora de casa por cada quatro refeições consumidas e 67 milhões de consumidores servidos todos os dias (FERCO, 2014).

Os problemas de saúde e segurança sempre ocuparam um lugar de destaque nas preocupações dos seres humanos, como se pode ver olhando para a escala de necessidades humanas de Maslow (Matias, Fonseca, Barata e Brojo, 2013). No sector alimentar estes problemas assumem um papel de destaque uma vez que a alimentação humana está diretamente relacionada com a sua saúde e o seu bem-estar.

A segurança alimentar é fundamental no “Catering” devido ao elevado número de refeições servidas todos os dias (Rosset, Cornu, Noël, Morelli e Poumeyrol, 2004). Por outro lado, nas recentes décadas a sociedade tem aumentado a vigilância em tudo o que diz respeito à segurança alimentar e ao controlo da saúde pelas autoridades, o que ajudou a aumentar a consciência da importância das condições de produção dos alimentos a colocar na mesa dos consumidores e da melhoria do setor da hotelaria e do “Catering” (Matias, Fonseca, Barata & Brojo, 2013).

I.2. Caracterização da atividade de “Catering” / Tipos de “Catering”

I.2.1. Caracterização dos serviços de Restauração de Eventos e conceito de “Catering”

O turismo pode ser classificado a partir do perfil do visitante e pela análise da motivação da sua deslocação. Entre os diversos tipos de turismo identificados, o que mais está a crescer é o Turismo de Eventos (Cardoso, 2003). Um evento pode ser definido como um acontecimento, de carácter eventual, limitado no espaço e no tempo (ex.: eventos culturais, sociais, desportivos, institucionais) (Johnsen, Bieger, Muller e Elsasser, 2004).

Um dos elementos do turismo que não pode faltar em nenhum destino é o da alimentação, seja como elemento de atração especial, ou como atividade essencial,

indispensável e inevitável (OMT, 2003). A restauração é considerada como um dos intervenientes na constituição do produto turístico, a par dos transportes, da hotelaria, das atividades culturais e de diversão (Albuquerque e Godinho, 2001).

Os serviços de restauração englobam os serviços de Restauração de Eventos, geralmente denominados de “**Catering**”, terminologia anglo-saxónica que, segundo a *Codex Alimentarius Commission* (CAC, 1993) significa a atividade de preparação, armazenamento e distribuição de alimentos para o consumidor final, no local de preparação ou num local diferente deste. A definição de “Catering” também é dada pela *Encyclopedia of Tourism* (2000), em que “Catering” significa fornecimento de alimentos, refeições e serviços a um certo número de pessoas, num determinado tempo e local específico, assim como no *Oxford Advanced Learner’s Dictionary* (2000) onde “Catering” significa a atividade de fornecer alimentos e bebidas para reuniões, congressos ou eventos sociais, tais como banquetes e casamentos.

De acordo com o local de distribuição dos alimentos e refeições, segundo Hansen (1995) e a *Encyclopedia of Tourism* (2000), assim se podem designar:

- “**Banquet Hall Catering**” ou “**Function Catering**”, que representam unidades independentes, normalmente associadas a hotéis, centros de congressos e convenções ou espaços concebidos para esse efeito (caso de palácios ou casas e quintas rurais), onde são fornecidas refeições para um grande número de consumidores (banquetes);
- “**Off-premise Catering**” que significa o fornecimento de refeições e serviços de restauração de eventos, para um espaço escolhido pelo cliente, num local longe da cozinha central onde se produzem as mesmas refeições.

De uma forma generalizada, as tarefas associadas aos estabelecimentos de “catering” são as seguintes: receção e armazenamento de alimentos, preparação dos alimentos, confeção dos alimentos, serviço ao cliente /distribuição, lavagem e limpeza (Matias *et al.*, 2013).

I.2.2-Tipo de sistemas de distribuição de refeições na restauração de eventos

Como foi referido anteriormente a “restauração de eventos” significa o fornecimento de refeições a um certo número de pessoas, num determinado tempo e local específico. Este conceito engloba os banquetes, designados no Dicionário Universal de Língua Portuguesa da Texto Editora (2000), como refeições aparatosas, festivas e solenes,

pressupondo assim o fornecimento de refeições para um grande número de consumidores.

Para se ser um bom fornecedor de refeições, é preciso saber fornecer alimentos com características de qualidade e sabor excelentes e que podem, simultaneamente, ser inovadoras e tradicionais. Um dos grandes problemas do planeamento das refeições e respetiva ementa, é que muitas vezes o cliente deseja uma determinada refeição que pode não ser adaptada às condições da cozinha e condições de distribuição, mas que, por motivos de ordem económica, o estabelecimento de restauração tem de aceitar, para não perder o cliente (Hansen, 1995).

Nos sistemas de “buffet” (sinónimo de livre serviço ou “self-service”) a distribuição dos alimentos para consumo é efetuada através de expositores, bancadas ou mesas, onde uma variedade de alimentos é exposta. Os consumidores ou se servem diretamente, ou então, são servidos por profissionais em determinados pontos (Villa de Brito, 2006). A vantagem de servir uma grande quantidade e variedade de alimentos e, ao mesmo tempo, se conseguir reduzir o número de empregados de serviço, faz com que os “buffets” sejam muito utilizados nas grandes festas e eventos.

Um dos grandes problemas dos “buffets” é que, comparativamente com o serviço à mesa sentado (“à la carte”), existe uma necessidade de se produzir mais refeições. As mesas de “buffets” devem estar esplendorosas durante todo o serviço, devendo a mesa do “buffet” estar constantemente repleta de alimentos, de modo a criar uma atmosfera de grandiosidade, própria de um banquete (Hansen, 1995).

I.2.3- Sistemas de Produção utilizados no “catering”

O aumento da competitividade entre as empresas e a necessidade de atendimento das normas de higiene e sanidade que regem o preparo e a distribuição de alimentos levaram alguns países da Europa e os Estados Unidos da América (EUA) à busca de novos processos tecnológicos de produção de refeições durante as décadas de 60 e 70 e uma solução encontrada foi a centralização da produção (Proença, 1997).

O sistema “cook-serve” refere-se ao sistema tradicional de produção de refeições e é aquele no qual os alimentos são confeccionados/ preparados próximo do horário de serem servidos (com algumas horas de antecedência) e depois são mantidos quentes (acima de 65°C) ou frios (entre 0°C e 4°C) durante a distribuição, em equipamentos conservadores da temperatura, e servidos no mesmo local em que foram produzidos.

No sistema centralizado as refeições são produzidas numa unidade denominada cozinha central e depois transportadas para outros locais, as cozinhas de acabamento, onde as preparações são finalizadas (Unklesbay *et al.*, 1977 citado por Greathouse e Gregoire, 1988).

Para além disso, nas últimas décadas, tornou-se também necessário fornecer refeições de um modo cada vez mais rápido e eficiente, o que levou à criação de **sistemas de produção antecipada de alimentos** capazes de ir ao encontro dessas novas realidades (Castanheira, 2009).

Assim, foram desenvolvidos vários tipos de processamento alimentar, tais como o “cook-freeze”, “cook-chill” e o “sous-vide”, procurando manter atuais os níveis de serviço e a um custo reduzido (Rodgers, 2004). Estes métodos permitem aumentar a vida útil dos alimentos, através da combinação de um processamento térmico suave com o armazenamento a baixas temperaturas, mas sem recorrer à adição de conservantes ou aditivos (Light & Walker, 1990 citados por Creed, 2001).

Quando o Sistema de Produção Antecipada de Alimentos é implantado, as melhorias ocorrem nos seguintes aspetos: diminuição do desperdício; redução do consumo de água, energia e matérias-primas durante a preparação; melhoria da qualidade organolética (preservação do sabor); aumento do “shelf-life” (prazo de validade) dos produtos; redução da oxidação, sobrecoção e evaporação ocorridas no processo de cocção dos alimentos e redução do consumo de óleo nas preparações (Valvassori, 2014).

Contudo, segundo a Food Safety Authority of Ireland (FSAI, 2006) a aplicação destes métodos não tem sido fácil. A Tabela 3 indica algumas das questões a considerar antes da implementação destes métodos numa indústria alimentar.

Tabela 1 - Questões a considerar antes de implementar o método “cook-chill”/ “cook-freeze” (adaptado de FSAI, 2006)

1. Quantidade de alimentos “cook-chill” a preparar
2. Consumidor final dos alimentos “cook-chill”
3. Formação do pessoal afeto em qualidade, higiene e segurança alimentar
4. Adequabilidade das instalações para receber o método “cook-chill”
5. Disposição da zona de preparação e das restantes instalações
6. Equipamento adequado
7. Requisitos de distribuição e transporte
8. Custo financeiro

Para além da poupança de recursos, são também indicadas como vantagens destes métodos, a melhoria das condições e dos horários de trabalho, com a concomitante redução da rotatividade do pessoal, aumento da satisfação do cliente, pois as encomendas são satisfeitas num curto prazo e observa-se também uma melhoria da palatabilidade das refeições, quando comparadas com as que sofrem apenas manutenção quente a temperaturas superiores a 63°C, durante longos períodos.

Os métodos “cook-chill” e “cook-freeze” são mais seguros do que outros métodos convencionais de fabrico de refeições. Tal facto deve-se à redução dos picos de volume de trabalho, o que reduz a ocorrência de erro humano (Sprenger, 2002).

Porém, a falta de aperfeiçoamento desta tecnologia nos pequenos produtores, a pressão comercial e logística para aumentar a vida útil dos produtos, a necessidade de uma distribuição refrigerada e o eventual desrespeito pela cadeia do frio por parte do consumidor contribuem para potenciais falhas na segurança destes produtos (Rodgers, 2004). Adicionalmente, esta tecnologia ainda possui alguns problemas práticos, nomeadamente: a exposição dos produtos a temperatura abusiva nos canais de distribuição, o facto de o armazenamento a temperaturas iguais ou inferiores a 3°C ser dispendioso, o facto de nem todos os parâmetros processuais possuírem uma justificação teórica aceitável e a existência de numerosas barreiras técnicas e dificuldades práticas na implementação do HACCP pelas empresas do sector alimentar (Rybka-Rodgers, 2001).

Para além disso, a redução do risco esbate-se, pelo menos estatisticamente, pela produção em larga escala, pois quanto maior a quantidade de alimentos produzidos, maior deverá ser o controlo sobre as operações, de forma a, pelo menos, manter o risco estatístico de toxi-infecção alimentar. Também a ideia de que a confeção mata os microrganismos não se aplica a estes métodos. O processo deverá ser entendido como um fator de redução da carga microbiana, pois sempre que a qualidade higiénica das matérias-primas for fraca, os referidos métodos não poderão garantir alimentos de qualidade higiénica aceitável (Castanheira, 2009).

Na distribuição dos alimentos processados pelo método “cook-chill”, a flutuação da temperatura pode ser efetivamente difícil de controlar. Contudo, é essencial que a temperatura dos alimentos não suba acima da designada temperatura de armazenamento, i.e. $\leq 3^{\circ}\text{C}$, particularmente se o período de armazenamento é para ser estendido até à data limite de consumo, i.e. máximo de 5 dias, no local do serviço ou exposição depois da distribuição. A temperatura do ar do veículo de distribuição deve

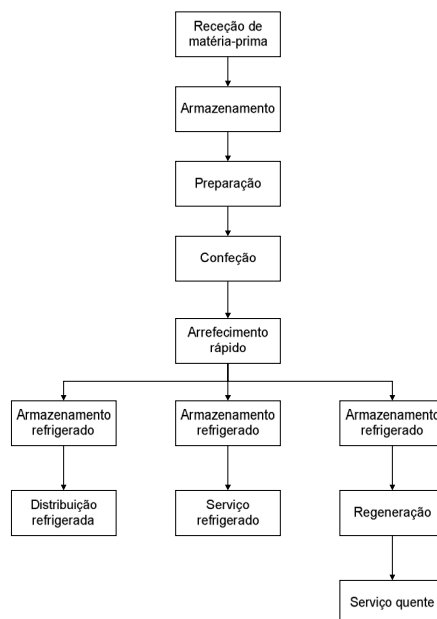
ser mantida entre -1°C e 5°C, e a temperatura do alimento em si deve ser mantida $\leq 3^{\circ}\text{C}$ durante a distribuição (National Standards Authority of Ireland, 1994).

I.2.3.1. “Cook-chill”

O método “cook-chill” consiste em confeccionar os alimentos, em seguida arrefecê-los rapidamente e armazená-los a uma temperatura acima do ponto de congelação (0° a 3°C), até à regeneração e/ ou serviço (FSAI, 2006). Surge assim a necessidade de transportar refeições refrigeradas, o que implica ter um cuidado redobrado com a temperatura para que não haja comprometimento da segurança alimentar (Rybka-Rodgers, 2001).

A figura 1 descreve o fluxograma típico de um alimento preparado pelo método cook-chill:

Figura 1 - Fluxograma do método cook-chill (adaptado de FSAI, 2006)



Os alimentos preparados de acordo com o sistema cook-chill podem ser consumidos até cinco dias incluindo o dia da confeção, não se devendo ultrapassar este prazo, uma vez que a qualidade dos alimentos diminui (Department of Health of England, 1989; FSAI, 2006). Todos os produtos utilizados neste sistema recebem um tratamento térmico, mas este não é suficiente para garantir a sua segurança alimentar. Assim sendo, a refrigeração torna-se um ponto fulcral, que retarda a deterioração do alimento e, por conseguinte, o crescimento da maioria dos microrganismos patogénicos (CAC, 1999). Este sistema resulta porque, para além dos esporos das bactérias psicrotróficas serem sensíveis a temperaturas elevadas, ocorre simultaneamente durante a confeção a inativação das formas vegetativas (Gould, 1996), por outro lado, o facto de se tratar de

uma confeção ligeira garante que o produto mantenha a sua qualidade organolética praticamente inalterada (Holdsworth, 2004).

Segundo a FSAI (2006), os seguintes componentes são necessários para assegurar a segurança dos alimentos produzidos pelo sistema cook-chill:

- a) As matérias-primas devem ser de boa qualidade microbiológica e fornecidas por fornecedores aprovados. As condições de armazenamento, incluindo tempos e temperaturas de todas as matérias-primas, devem ser monitorizadas e controladas;
- b) A confeção deve assegurar a destruição de qualquer uma das formas vegetativas dos microrganismos patogénicos presentes;
- c) O arrefecimento rápido controlado deve ser imediatamente após a confeção, de modo a controlar o crescimento dos microrganismos;
- d) A contaminação cruzada deve ser evitada em todas as etapas, particularmente entre alimentos crus e alimentos confeccionados;
- e) As condições de armazenamento e de distribuição dos alimentos produzidos no sistema cook-chill devem assegurar a sua segurança microbiológica;
- f) Todos os procedimentos de regeneração e do serviço devem assegurar que a sua segurança microbiológica é mantida até ao consumo;
- g) Um sistema de gestão de segurança alimentar incorporando o HACCP.

Neste sistema, ainda segundo a FSAI (2006), na etapa de confeção, a temperatura em todo o alimento deve ser mantida acima dos 70°C durante pelo menos por 2 minutos.

Existem várias recomendações para o arrefecimento rápido na bibliografia. O Departamento de Saúde (Department of Health) do Reino Unido (UK) refere que o alimento seja pré-arrefecido durante 30 minutos e depois refrigerado entre 0°C e 3°C num máximo de 90 minutos, conferindo ao produto 5 dias de validade incluindo o dia da produção. Já a *Food and Drug Administration* (FDA) (USA) estabelece 2 horas para arrefecer de 60°C para 21°C ou um total de 6 horas para arrefecer de 60°C para 5°C, conferindo ao produto um período de validade de 7 dias quando conservado a 5°C ou menos (FDA, 2013).

A distribuição das refeições deve começar no máximo 15 minutos após a regeneração (Department of Health of England, 1989; FSAI, 2006) e as refeições devem ser regeneradas entre 63°C e 70°C e durante o tempo ideal, para que a qualidade nutricional e sensorial dos alimentos não seja prejudicada pelo seu sobreaquecimento. As refeições que forem regeneradas e deixadas arrefecer devem ser rejeitadas. Alimentos destinados

a serem consumidos frios ou à temperatura ambiente devem ser consumidos o mais rapidamente possível e, de preferência, nos 30 minutos após a saída da câmara frigorífica (Department of Health of England, 1989).

I.2.3.2. “Cook-freeze”

O método “cook-freeze” é em tudo semelhante ao método “cook-chill”, no entanto alguns parâmetros processuais são diferentes.

Neste método pretende-se a redução da temperatura das refeições para -18°C em menos de 90 minutos (Fennema, Powrie & Marth, 1973; Brown, Evans, James, James & Swain, 2006), logo após a confeção.

Após a ultracongelação o alimento poderá ser conservado entre -18°C e -20°C até 12 meses. Uma vez que a temperaturas inferiores a -18°C não existe desenvolvimento microbiano, esta temperatura é, em muitos países, especificada para a conservação de alimentos ultracongelados (Henriques, 2008).

Antes da regeneração o alimento deverá ser completamente descongelado, isto é, não deverão existir cristais de gelo no alimento. Após a descongelação, o alimento poderá ser regenerado do mesmo modo que um alimento “cook-chill” (Brown *et al.*, 2006). Contudo, se a descongelação não ocorrer na totalidade, certas áreas do alimento continuam congeladas e na regeneração, a temperatura nestas zonas do alimento poderá não ser suficiente para a destruição dos microrganismos patogénicos que possam eventualmente existir (Barrie, 1996, citado por Brown *et al.*, 2006).

A congelação rápida (ultracongelação) é altamente recomendável por questões ligadas à qualidade do produto (Geiges, 1996).

I.2.3.3. “Sous-vide”

Segundo Baldwin (2014) “sous-vide” é o termo francês para “sob vácuo” e refere-se a um método de cozinhar alimentos acondicionados em sacos de plástico sob vácuo num banho de água ou num ambiente com vapor a temperatura controlada por um tempo superior ao usado nos métodos de confeção tradicionais. O tempo pode variar entre 2 horas e 72 horas e a temperatura precisa de ser estável, normalmente entre 40°C e 70°C, dependendo do que se cozinha. O objetivo da técnica é manter a integridade do alimento, evitando a perda de humidade e sabor.

O método de confeção *sous-vide* difere dos métodos tradicionais de confeção de dois modos fundamentais: os alimentos crus são acondicionados sob vácuo em sacos

plásticos próprios para uso alimentar e resistentes a temperaturas elevadas e os alimentos são cozinhados a uma temperatura precisa e estável.

O acondicionamento a vácuo tem vários benefícios: permite que o calor seja eficientemente transferido da água (ou vapor) para os alimentos; aumenta o tempo de vida útil dos alimentos por reduzir o risco de recontaminação durante o armazenamento; inibe o aparecimento dos “off-flavours” da oxidação e previne as perdas por evaporação dos sabores voláteis e da humidade durante a confeção; e reduz o crescimento bacteriano aeróbico – o que origina alimentos particularmente saborosos e nutritivos. Contudo, a temperatura precisa e estável tem mais benefícios para os *chefs* que o acondicionamento sob vácuo: permite uma reprodutibilidade quase perfeita; permite um maior controlo sobre a cozedura que nos métodos tradicionais de confeção; os alimentos podem ser pasteurizados e sanificados a temperaturas mais baixas, de modo que não têm que ser “bem cozinhados” para serem seguros; e pedaços rijos de carne (que tradicionalmente eram guisados para ficar tenros) podem ficar tenros e num “grau de cozedura” médio ou médio-raro (Baldwin, 2012).

Em relação aos alimentos “sous-vide cook-chill”, Sebastiá *et al.* (2010) concluíram que a sobrevivência dos microrganismos no processo depende da carga inicial e que o produtor tem que implementar um sistema de rastreabilidade de modo a assegurar a segurança alimentar destes produtos.

I.3. Perigos veiculados pelos alimentos

As refeições servidas em estabelecimentos de restauração podem potencialmente veicular **perigos** capazes de provocar efeitos adversos na saúde de quem os consome (Montes *et al.*, 2005), entendendo-se por perigo qualquer agente de origem biológica, física ou química, que uma vez presente pode tornar o alimento prejudicial ao consumidor (CAC, 2003).

Os **perigos biológicos** são provavelmente os mais problemáticos para a inocuidade dos alimentos, estimando-se que 90% das doenças transmitidas por alimentos são provocadas por microrganismos (Veiga *et al.*, 2009). Nesta categoria incluem-se bactérias, fungos, vírus e parasitas (Baptista & Linhares, 2005), ainda que as bactérias sejam, no entanto, as responsáveis pelo maior número de efeitos adversos na saúde dos consumidores.

Agentes patogénicos específicos estão frequentemente associados a alimentos específicos, como se pode constatar na Tabela 1.

Tabela 2 – Associações comuns entre agentes patogénicos e alimentos (adaptado de FSAI 2006b)

Agente Patogénico	Alimentos frequentemente associados
<i>Salmonella</i> spp	Ovos, aves, outras carnes e produtos lácteos
<i>Clostridium botulinum</i> Mesofílico/ Proteolítico: tipos A, B e F	Alimentos enlatados, embalados a vácuo (VP) e embalados em atmosfera modificada (MAP)
<i>Clostridium botulinum</i> Psicrotrófico/ Não-proteolítico: tipos B, E e F	Alimentos enlatados, alimentos VP/MAP e alimentos em boiões de vidro
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ovos, aves, outras carnes, produtos lácteos e produtos de confeitaria
<i>Campylobacter jejuni</i>	Ovos, aves e produtos à base de leite
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Carnes frescas e leite
<i>Listeria monocytogenes</i>	Alimentos prontos a consumir
<i>Clostridium perfringens</i>	Carnes confecionadas e produtos avícolas
<i>Escherichia coli</i> O157 e outras <i>E. coli</i> Verotoxigénicas (VTEC)	Carnes, aves, leite e produtos vegetais
<i>Bacillus cereus</i>	Arroz e pasta cozidos, especiarias, carnes, leite, vegetais, peixe, molhos, pudins, sopa, produtos de pastelaria e saladas
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Peixes e produtos à base de peixe

A sobrevivência e o crescimento dos agentes patogénicos dependem de fatores intrínsecos e extrínsecos dos alimentos. Nos primeiros encontramos a composição nutricional (incluindo a presença de constituintes antimicrobianos), o pH, a textura (estruturas biológicas), o valor da atividade da água (a_w) e o potencial redox do alimento. Nos segundos encontramos a temperatura e a composição da atmosfera circundante (Adams & Moss, 2008).

Na tabela 3 podemos constatar alguns exemplos em como a composição dos alimentos influencia a inativação dos microrganismos.

Tabela 3 – Efeito das características da composição dos alimentos na resistência ao calor dos agentes patogénicos em geral (adaptado de FSAI 2006b)

Características da composição do alimento	Aumento da resistência ao calor
Aumento do conteúdo em gordura ^A	Sim
Aumento do conteúdo em hidratos de carbono ^B	Sim
Aumento do conteúdo em proteínas	Sim
Aumento do conteúdo em sal ^C	Variável
Estrutura do alimento ^D	Variável

^A Estudos da resistência ao calor da *Listeria monocytogenes* mostram que esta aumenta com o aumento do conteúdo em gordura do alimento.

^B A resistência ao calor dos patogénicos vai aumentar na presença de concentrações elevadas de açúcares. Isto é parcialmente devido à diminuição da a_w associada às concentrações elevadas de açúcares. Contudo, os efeitos relativos dos diferentes açúcares na resistência ao calor variam bastante ainda que o a_w se mantenha o mesmo. A resistência ao calor dos patogénicos aumentará também na presença de amido(s) num produto.

^C O efeito do sal na resistência ao calor dos patogénicos é variável e depende largamente no tipo de sal e na sua concentração. Sais de sódio, por exemplo cloreto de sódio, diminuirá a a_w e assim pode aumentar a resistência ao calor. Outros sais como sais de cálcio ou de magnésio aumentam a a_w e, deste modo, diminuem a resistência ao calor.

^D Muitos alimentos não terão uma estrutura interna uniforme. Como consequência podem formar-se microambientes dentro do alimento. A localização das células dos patogénicos no interior do alimento também pode afetar a sua resistência ao tratamento térmico. Microambientes podem ter propriedades diferentes das do alimento como um todo. Isto pode ser problemático se estas propriedades dos microambientes permitirem o crescimento dos patogénicos e se as propriedades do alimento como um todo não permitirem a sua sobrevivência e crescimento.

I.4- Doenças de Origem Alimentar

As doenças de origem alimentar (DOA) provocam um enorme dano na saúde das populações. Milhões de pessoas adoecem e morrem como resultado da ingestão de alimentos contaminados. Profundamente preocupados com isso, os Estados-Membros da OMS aprovaram uma resolução em 2000 para reconhecer a segurança alimentar como uma função essencial de saúde pública.

A segurança alimentar engloba todas as acções que visam assegurar que todos os alimentos são o mais seguros possível. Políticas e acções de segurança alimentar têm de abranger toda a cadeia alimentar, desde a produção até o consumo (“from farm to fork”) (WHO, 2014a).

As DOA abrangem um amplo espectro de doenças e são um problema crescente de saúde pública em todo o mundo. Elas são o resultado da ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou produtos químicos. A contaminação dos alimentos pode ocorrer em qualquer fase do processo de produção de alimentos desde a produção até ao consumo e pode resultar de contaminação ambiental, incluindo a poluição da água, solo ou ar (WHO, 2014b).

No caso de uma DOA provocada por agente biológico (microrganismo), essa condição é, frequentemente, denominada de toxi-infecção alimentar e os microrganismos que deram origem à doença denominam-se patogénicos (Forsythe, 2002).

De acordo com Mossel & Garcia (1985) e Novais (2004) as toxi-infecções alimentares podem ser caracterizadas por:

- **Intoxicações alimentares:** ocorrem quando são ingeridas toxinas produzidas durante o desenvolvimento microbiano nos alimentos, toxinas estas com ação enterotoxigénica;
- **Infecções alimentares:** os alimentos são o veículo dos microrganismos que, ao desenvolverem-se no intestino, provocam uma infecção no hospedeiro.

Como exemplo de microrganismos produtores de enterotoxinas temos as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum*. Como exemplo de infecções bacterianas e respetivos microrganismos temos a Salmonelose (ex: *Salmonella* Enteritidis), Campilobacteriose (ex: *Campylobacter jejuni*), Shigelose (ex: *Shigella sonnei*) e Yersiniose (ex: *Yersinia enterocolitica*).

Os perigos biológicos podem-se encontrar em quase todos os alimentos, mas a sua transmissão resulta, na maioria dos casos, da utilização de práticas erradas nas últimas etapas da sua confeção ou distribuição (Veiga *et al.*, 2009).

A presença de perigos nos alimentos decorre de vários fatores: desde novos métodos de produção animal e vegetal, com recurso a produtos cujos resíduos podem ser perigosos nos alimentos até aos novos hábitos de consumo. As alterações nos hábitos de consumo incluem o recurso a alimentos pré-cozinhados ou prontos a cozinhar, a toma de refeições em unidades de restauração, o aumento do consumo de carne e de aves, o aumento do intervalo entre a preparação e o consumo dos alimentos e o aumento do consumo de alimentos preparados fora de casa, todos eles contribuindo para o aumento da incidência de toxi-infecções devidas a microrganismos (WHO/FAO, 2002a; Bernardo, 2006). Outros fatores a concorrerem para o aumento das ocorrências de toxi-infecções alimentares por agentes microbiológicos incluem as alterações dos perfis demográficos, com aumento da parte da população mais suscetível aos agentes nos alimentos, e as alterações nas práticas de produção dos alimentos e dos sistemas de distribuição de alimentos. Também os sistemas de produção agro-pecuários intensivos com a consequente alteração dos sistemas ecológicos, levam à emergência de zoonoses e os resíduos e contaminantes resultantes da produção pecuária podem constituir uma fonte de contaminação devido aos microrganismos patogénicos eventualmente presentes (WHO/FAO, 2002a; Jones *et al.*, 2013).

As DOA têm consequências diretas na saúde humana, que se manifestam de várias formas, desde o desconforto ou incapacidade temporária (FDA, 2013), sendo a diarreia o sintoma mais frequente, até à ocorrência de insuficiências renal e hepática, disfunções no sistema nervoso e mesmo morte (WHO/FAO, 2002a). A estas consequências podem juntar-se outras como as perdas económicas, o desperdício de matérias-primas alimentares e os efeitos nas transações comerciais, com consequências económicas importantes e efeitos nefastos na confiança do consumidor (WHO/FAO, 2003; Wesley, 2009).

As DOA afetam de modo mais grave certos grupos da população como crianças, grávidas, idosos, utentes em instituições de saúde e pessoas com outras doenças concomitantes ou imunodeprimidas (WHO/FAO, 2002a; FDA, 2013; Forsythe, 2010).

Para que ocorra uma doença transmitida por alimentos, por ação de agentes biológicos, os microrganismos patogénicos ou as suas toxinas têm que estar presentes. Para além disso, é ainda necessário que o microrganismo patogénico se encontre em quantidade suficiente para causar a infeção ou para produzir toxinas; que o alimento suporte o crescimento do microrganismo; que o alimento permaneça na “zona de perigo” de temperaturas tempo suficiente para a multiplicação microbiana ou produção de toxinas

ocorrer e, ainda, que seja ingerida uma quantidade suficiente, de modo a ultrapassar o limiar de suscetibilidade de quem o ingeriu (Baptista & Antunes, 2005).

Tem sido reconhecido o papel cada vez mais predominante da restauração na incidência de casos de doença alimentar, principalmente devido às modificações socioeconómicas que levaram um número crescente de pessoas a comer fora de casa. A dificuldade em produzir um alimento seguro baseia-se no facto da população de consumidores ser bastante diversificada, com vários graus de sensibilidade e estilos de vida. Para além disso, existe uma procura crescente por parte dos consumidores de alimentos frescos e minimamente processados que possuam uma garantia de segurança absoluta. No entanto, este conceito pode ter várias definições, dependendo do que se considera um risco significativo. O público em geral pode considerar que os alimentos seguros correspondem a um risco igual a zero, enquanto que um produtor de alimentos deve considerar o que é um risco aceitável. Um risco nulo é impraticável dada a quantidade de produtos alimentares disponíveis, a complexidade da cadeia de produção e distribuição e a natureza humana (Jouve *et al.*, 1998; Forsythe, 2002). Não obstante, os riscos de ocorrência de doenças de origem alimentar devem ser reduzidos para níveis aceitáveis na restauração de eventos, como em qualquer outra atividade do sector alimentar.

I.4.1. Fatores associados à ocorrência de DOA na restauração

Os dados epidemiológicos têm identificado repetidamente, nos serviços de preparação e confeção de alimentos, determinados fatores contribuintes para as DOA, relacionados com comportamentos e práticas, tais como temperaturas de armazenamento impróprias, confeção inadequada (como cozimento de ovos em natureza), equipamento contaminado, alimentos de origem insegura e higiene pessoal inadequada (FDA, 2013). Na área da restauração, os momentos que antecedem o serviço das refeições estão relacionados com os principais erros cometidos o que condiciona a segurança alimentar e a qualidade dos produtos (FSAI, 2006a; Azevedo, 2008).

Um estudo conduzido pela *European Food Safety Authority* (EFSA) e pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) identificou os fatores concorrentes para a ocorrência dos surtos alimentares mais reportados pelos sistemas dos vários Estados-Membros (EM) e que incluem deficiências na preparação dos alimentos, falta de condições de higiene e presença do agente etiológico nos manipuladores, confirmada a partir de isolamento (EFSA, 2007).

Se é imprescindível a exigência de garantias de segurança a montante da cadeia alimentar, no caso particular da restauração, esta exigência assume uma importância crucial, pois a restauração surge como um elemento do final da cadeia alimentar que faz a ponte para o consumidor final e, de certo modo, substitui-o na sua tarefa de preparar, confeccionar e conservar os alimentos. De facto, os métodos e cuidados usados no processamento dos alimentos na restauração podem comprometer todos os bons resultados obtidos a montante.

Relativamente à restauração de eventos, Worsfold (2001), realizou um estudo no Reino Unido em estabelecimentos de “function-catering” e identificou os seguintes problemas: grande número de consumidores; elevada quantidade de alimentos preparados com antecedência; refeições bastante elaboradas; ausência de condições adequadas para o correto armazenamento ou conservação dos alimentos; atraso no serviço de distribuição das refeições; self-service pelos consumidores; consumidores de última hora; pessoal extra; locais, instalações e equipamentos de distribuição de refeições inadequados; incorreto transporte e distribuição das refeições; excesso de alimentos prontos a consumir, com possíveis sobras expostas a condições inadequadas.

Em Portugal o panorama não é diferente, sobretudo ao nível do “catering” de eventos de pequena e média dimensão, muito comuns a nível hoteleiro. De facto, existe um conjunto de características deste tipo de serviço que está na base de situações de risco, as quais ocorrem com muita frequência na época estival. Entre essas situações de risco destacamos: a presença de menus muito elaborados e apelativos visualmente, *self-service* pelos utentes, pessoal extra, equipamento incorreto de manutenção a quente, mas sobretudo a quase ausência de sistemas de refrigeração de alimentos expostos em bufetes.

Nos banquetes realizados em locais fora dos estabelecimentos de restauração concorrem, geralmente, outros fatores de risco, tais como: elevadas temperaturas, transporte e armazenamento incorretos de refeições, número elevado de refeições preparadas com antecedência, sobras em quantidades elevadas e frequentemente um elevado número de convidados extra de “última hora” (Brandão, 2007).

I.4.2. Incidência das DOA nos EUA e na Europa

Tal como já foi referido, milhões de pessoas adoecem todos os anos por ingerir alimentos contaminados (“não seguros”). Surtos graves de DOA têm sido documentados na última década em todos os continentes e, em muitos países tem-se verificado um aumento nas taxas de incidência das DOA (WHO, 2014c).

Nos Estados Unidos da América (EUA) estima-se que, aproximadamente, 48 milhões de pessoas adoecem, destas 128 mil são hospitalizadas e 3 mil morrem de toxi-infecções alimentares, todos os anos. Os agentes patogénicos, mais comuns, que causam estas doenças são Norovírus, *Salmonella* não tifóide, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp e *S. aureus* (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2011).

No relatório de progressos da CDC, onde comparam os dados epidemiológicos de 2013 com os dados epidemiológicos de 2006-2008 dos EUA, podemos constatar que para o agente *Campylobacter* houve um aumento de casos em 13%, para o agente *Vibrio* houve um aumento de 75% e para os agentes *Escherichia coli* O157, *Listeria* e *Salmonella* não houve qualquer alteração (CDC, 2014). E se analisarmos os relatórios de progressos da CDC de 2012 e 2011 os valores são similares e continuam a indicar que as DOA continuam a ser um problema atual.

Na Europa, segundo o relatório de zoonoses de 2012 da *European Food Safety Authority* (EFSA) e da *European Center for Disease Control and Prevention* (ECDC), continuou a redução (desde 2008) de casos de salmonelose em humanos, mas os casos de listeriose humana aumentaram. A maioria dos 5363 surtos de DOA declarados foram causados por *Salmonella*, toxinas bacterianas, vírus e *Campylobacter* e os alimentos maioritariamente implicados foram ovos, refeições mistas e peixes e produtos à base de pescado. Assim, apesar de algumas metas já terem sido atingidas, mais políticas e ações têm que ser postas em prática para reduzir a incidência das DOA.

Segundo o último relatório publicado pela EFSA, em 2012, ocorreram 5.363 surtos de DOA, que deram origem a 55.453 casos de doença, dos quais foram hospitalizados e morreram (EFSA, 2014).

Em 2012, a maioria dos surtos ocorridos foram associados a alimentos de origem animal. Como nos anos anteriores, os principais alimentos implicados foram os ovos e os ovoprodutos, responsáveis por 22,0 % dos surtos, nos quais a *Salmonella* Enteritidis foi o agente patogénico mais frequente neste alimento. As refeições mistas foram a categoria a seguir mais implicada, sendo responsáveis por 15,6 % dos surtos e os

agentes mais frequentemente detetados foram Calicivírus, *Salmonella* e *Clostridium perfringens* (26,9%, 21,0% e 20,2%, respetivamente). Peixe e produtos derivados com 9,2% dos surtos tiveram como principal agente responsável a histamina (48,6%).

Crustáceos, marisco e moluscos foram responsáveis por 4,6% dos surtos, por Calicivírus e biotoxinas marinhas. Os vegetais originaram 5,1% dos surtos, os quais foram causados maioritariamente por vírus, *Salmonella* e micotoxinas.

O número de surtos causados pelas refeições mistas aumentou em comparação com 2011, de 15,6% para 17,8%. Observou-se igualmente um ligeiro aumento dos surtos causados por ovos e ovoprodutos, de 21,4% para 22,0%. Em contrapartida, observou-se uma ligeira diminuição nos surtos com origem em peixe e produtos derivados, de 10,1% para 9,2%, nos vegetais, de 5,3% para 5,1% e nos crustáceos, marisco e moluscos, de 6,0% para 4,6%.

A *Salmonella* e os vírus foram os agentes mais frequentemente responsáveis por DOA (29,3% e 22,4%, repetivamente) nos alimentos de origem não animal, seguidos das micotoxinas (13,8%) e do *Bacillus cereus* (10,3%) (EFSA, 2014).

I.4.3. Doenças de origem alimentar em Portugal

Em Portugal não existe um sistema nacional de vigilância das DOA e, por conseguinte, não existem dados a nível nacional publicados.

Numa investigação efetuada pelo Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), realizada no período 2008-2011 foram avaliados 81 surtos e apenas em 37 foi detetado o agente etiológico. Foram envolvidas 547 pessoas, 183 das quais recorreram ao hospital e uma faleceu por *Yersinia enterocolitica*. O agente etiológico mais frequentemente implicado foi a enterotoxina estafilocócica e/ou Estafilococos coagulase positiva (17,3%) seguida de *Clostridium botulinum* (11,1%) e *Salmonella* spp (7,4%). Como alimentos responsáveis por um maior número de toxinfecções alimentares, destacaram-se as refeições cozinhadas com 22 surtos, que envolveram os agentes estafilococos, *Bacillus cereus*, *Bacillus* spp, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* não-O157 VTEC e toxina botulínica. Foi detetado o primeiro caso de botulismo infantil (Saraiva *et al.*, 2011; Correia *et al.*, 2013). No ano de 2013 foram investigados 19 surtos em 10 dos quais se detetou o agente etiológico tendo sido envolvidos 183 doentes e 17 hospitalizações. As refeições mistas e os bolos de pastelaria constituíram os alimentos onde mais frequentemente foi

identificado o agente. O agente mais frequente continuou a ser a enterotoxina estafilocócica e/ou estafilococos coagulase positiva. Relativamente aos fatores envolvidos na ocorrência destes surtos têm sido as contaminações cruzadas, procedimentos de manipulação incorretos e o abuso do binómio tempo/temperatura de conservação dos alimentos, sendo que, em vários surtos, esteve presente mais do que um fator (Viegas, 2014).

I.5. Conceitos de Segurança Alimentar e Higiene Alimentar

Numa fase primária, a Segurança Alimentar baseava-se apenas na distinção entre comestíveis e não comestíveis. Porém, nas suas diversas vertentes, tem vindo a tornar-se um conceito cada vez mais rigoroso, sendo preocupação intrínseca ao processo natural de sobrevivência humana.

De facto, a Segurança Alimentar e o Controlo Alimentar têm sido reconhecidos como matérias importantes em muitos países durante décadas (Schlundt, 2002).

A CAC define “Segurança Alimentar” como sendo a garantia de que os alimentos não provocarão danos ao consumidor quando são preparados ou consumidos de acordo com o uso a que se destinam (CAC, 2003), estando intrinsecamente ligada à higiene dos géneros alimentícios. A “Higiene Alimentar”, por sua vez, é definida como o conjunto de medidas e condições necessárias para controlar os perigos e assegurar que os géneros alimentícios são próprios para consumo humano (Regulamento CE nº 852/2004 de 29 de Abril). O mesmo regulamento estabelece que todos os operadores de empresas do sector alimentar, ao longo da cadeia de produção, devem garantir que a segurança dos géneros alimentícios não é comprometida, para tal devendo criar e aplicar programas de segurança baseados nos princípios do sistema *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP). Por sua vez, os requisitos do sistema HACCP implementado deverão tomar em consideração os princípios da CAC, devendo ter a flexibilidade suficiente para ser aplicáveis em todas as situações, sem que, contudo, essa flexibilidade comprometa os objetivos de higiene estabelecidos.

Assim as indústrias alimentares, incluindo a restauração, por imposição dos governos e de toda a legislação inerente e com o objetivo de corresponder às exigências dos consumidores por uma alimentação segura, têm vindo a adotar e implementar como sistema preventivo de controlo e gestão da segurança alimentar o sistema HACCP.

I.5.1. HACCP

O sistema HACCP constitui numa abordagem sistemática na identificação, avaliação e controlo dos perigos que podem intervir com a segurança alimentar e consiste num sistema de garantia da qualidade (FDA, 2013).

De acordo com a FDA (2013), um **Ponto Crítico de Controlo (PCC)** refere-se a uma etapa ou procedimento no qual a perda de controlo pode resultar num risco inaceitável para a saúde, sendo que o controlo aplicado a essa etapa é essencial para prevenir ou eliminar o perigo alimentar ou reduzi-lo para um nível aceitável.

O estabelecimento de **limites críticos** define os parâmetros que têm que ser verificados e assegurados em cada PCC. A monitorização e verificação são os passos subsequentes que asseguram o controlo e a eficácia do processo. O HACCP constitui assim uma importante ferramenta na segurança alimentar, suportada por **Programas de Pré-requisitos (PPRs)** que, quando implementados, permitem a manutenção do controlo dos perigos associados aos alimentos (CAC, 2003).

Os PPRs constituem a base para a aplicação efetiva do HACCP e devem ser definidos previamente à implementação do próprio sistema (Bolton e Maunsell, 2004; Novais, 2006). A ISO 22000 (2005) define PPRs como o conjunto das medidas de controlo necessárias para assegurar uma produção, um manuseamento e um ambiente higiénicos, não tendo como objetivo controlar perigos específicos. Aliás a ISO 22000 (2005) introduz um novo grupo de medida de controlo - os **Programas de Pré-requisitos Operacionais (PPROs)** e que define como um conjunto de medidas de controlo que a análise de perigos considera necessárias para controlar perigos identificados mas que não são geridos pelo Plano HACCP, ou seja, que não são um PCC (Natrulink, 2014).

O Regulamento 852/2004 define aspetos gerais de higiene dos géneros alimentícios que correspondem aos PPRs de um sistema HACCP, onde se incluem instalações e equipamentos, controlo de fornecedores, manipulação segura (embalagem e transporte), controlo de pragas e resíduos, limpeza e desinfeção, controlo da água, manutenção da cadeia de frio, saúde e higiene do pessoal e formação (Novais, 2006).

Segundo Bolton & Maunsell (2004) importa que sejam selecionados os PCC efetivamente necessários ao controlo dos perigos significativos, existentes no estabelecimento, e que não sejam controlados através dos PPRs.

I.5.2. Monitorização de PCCs na restauração de eventos

Um **limite crítico** pode ser definido como o critério que separa a aceitabilidade da não aceitabilidade da eficácia de uma ação corretiva ou medida de controlo (CAC, 2003). Pode ser definido como um valor máximo ou mínimo ao qual o PCC tem de obedecer de modo a minimizar o risco que o perigo identificado pode representar. Os limites críticos podem derivar de fontes como manuais de normas ou outros guias, literatura científica, estudos experimentais ou consulta de peritos (FDA, 2013).

A monitorização é uma sequência planeada de observações ou medidas que permitem verificar se um PCC está sob controlo (FDA, 2013), ou a observação e medição programada de um PCC, tendo em conta os seus limites críticos. Os dados resultantes da monitorização devem ser avaliados por uma pessoa qualificada, com conhecimento e autoridade para determinar medidas corretivas quando tal for necessário. A frequência da monitorização deve ser suficiente para garantir que o PCC está sob controlo. Todos os registos e documentos relacionados com a monitorização dos PCC devem ser assinados pelo responsável que realiza a monitorização (WHO/FAO, 2003), o que auxilia na tarefa de verificação do plano HACCP (FDA, 2013).

I.6. Microrganismos Indicadores de Qualidade e Higiene Alimentar

Tendo em vista a Segurança Alimentar, tem ocorrido um aumento da procura para a identificação de parâmetros que avaliem, precocemente e de modo eficaz, as alterações dos alimentos. Deste modo, poderão ser analisadas quais as melhores formas de processamento, manuseamento e conservação dos alimentos, ao nível de uma melhor qualidade do produto, garantindo assim a sustentabilidade dos negócios tendo como principal objetivo a inexistência de reclamações ao nível da segurança alimentar.

Neste contexto, os indicadores microbiológicos podem dar preciosas informações sobre a eficácia do processamento de alimentos, numa fase inicial, anterior às alterações físico-químicas dos mesmos. Refletem a qualidade microbiológica dos alimentos.

Acresce que, normalmente, a presença dos indicadores microbiológicos em alimentos, não constitui pela sua natureza uma fonte de microrganismos patogénicos, contudo estes indicadores têm sido considerados indicadores da sua possível presença (Jay, Loessner e Golden, 2005).

Os níveis de qualidade não satisfatória para o parâmetro “contagem de microrganismos a 30°C” (também designado por “contagem de aeróbios mesófilos” (CAM)) têm como

possíveis causas a refrigeração inadequada e um elevado período de exposição a temperatura inadequada (abuso de tempo/ temperatura) (Maia, 2008).

Relativamente ao indicador “contagem de *Enterobacteriaceae*” níveis de qualidade não satisfatória revelam-nos contaminação pós-confeção, contaminação cruzada entre crus e cozinhados e deficiente higiene na manipulação (Maia, 2008).

No que respeita ao indicador microbiológico “contagem de *E. coli*”, segundo o Regulamento CE nº 1441 de 2007 (relativo a critérios microbiológicos aplicáveis a géneros alimentícios), este microrganismo é utilizado como indicador de contaminação fecal e nível de higiene. Igualmente o INSA refere que, as possíveis causas da “contagem de *E. coli*” não ser satisfatória, a nível da qualidade, são a confeção insuficiente, a contaminação após a confeção, a contaminação cruzada e a manipulação/lavagem das mãos deficiente (Maia, 2008).

I.7. Objetivos do Estudo

Numa sociedade cada vez mais exigente e com um consumidor cada vez mais bem informado, manter a QUALIDADE e a SEGURANÇA ALIMENTAR dos produtos comercializados são objetivos cruciais e constantes de todas as empresas do sector alimentar que se querem manter no mercado global. Garantir a inocuidade dos produtos alimentares comercializados durante o seu tempo de vida nas “prateleiras” (prazo de validade) é, assim, motivo de preocupação e as empresas investem uma percentagem dos seus orçamentos anuais na implementação/manutenção dos seus Sistemas de Gestão da Segurança Alimentar e em estudos e validações dos mesmos. O sector do catering não é exceção.

A implementação de Sistemas de Segurança Alimentar na atividade de Catering (produção de refeições e/ou componentes de refeição variadas, seguida da sua posterior distribuição em eventos realizados nos mais diversos locais) é complexa pelas próprias características da atividade: por um lado, os locais não apresentam condições higio-sanitárias adequadas a maior parte das vezes e, por outro lado, dadas as especificidades dos eventos, muitas preparações culinárias estão sujeitas a tempos de exposição muito prolongados a temperatura não controlada antes de serem consumidas.

Deste modo, estabelecer requisitos tais como tempo de exposição máximo e forma de exposição que nos garanta que as preparações culinárias podem ser consumidas sem causar qualquer dano na saúde do consumidor, assim como estabelecer quais os

ingredientes e preparações de risco, permitiria simplificar a implementação dos controlos no âmbito dos Sistemas de Segurança Alimentar neste tipo de atividade.

O objetivo principal deste trabalho foi a definição de linhas orientadoras para a implementação de um Sistema de Segurança Alimentar na restauração de eventos.

Os objetivos específicos foram:

- Definição dos fatores críticos e seleção das preparações culinárias a estudar;
- Avaliação do grau de cumprimento das Boas Práticas de Higiene e Fabrico;
- Estudo da evolução da flora microbiana em preparações culinárias dos grupos I, II e III (segundo valores-guia do INSA);
- Interpretação dos resultados laboratoriais.

I.7.1. Evolução da flora microbiana ao longo do tempo de exposição

O controlo do tempo e temperatura é um dos aspetos fundamentais nos Sistemas de Segurança Alimentar. O controlo inadequado das temperaturas dos alimentos é uma das causas mais frequentes das doenças transmitidas pelos alimentos ou pela deterioração destes (CAC, 2003).

No “catering” este problema coloca-se sobretudo ao nível da etapa de EXPOSIÇÃO, pois a logística complexa em eventos de médias e grandes dimensões, leva a que o “empratamento” de sobremesas, saladas e outros pratos confeccionados seja realizado muito tempo antes de serem servidos, ultrapassando normalmente em muito as 4 horas de exposição a temperatura não controlada, critério de segurança recomendado pelos principais referenciais de Higiene e Segurança Alimentar (CAC, 2003 e FDA, 2013).

Não havendo equipamentos de refrigeração e/ou de manutenção a quente suficientes para manter os alimentos a temperatura controlada por um lado e não havendo pessoal suficiente para efetuar a medição e controlo de temperaturas dos alimentos em exposição e para acionar as medidas corretivas por outro, o controlo do tempo e da temperatura dos alimentos na atividade de “Catering de Eventos” é um ponto crítico.

Assim, na implementação do HACCP nesta atividade surgiu a necessidade de simplificar os controlos na etapa de exposição/distribuição, pelo que seria importante estabelecer um tempo máximo de exposição a temperatura não controlada que nos desse a garantia de que o alimento pode ser consumido sem causar danos na saúde do

consumidor. Para tal, teríamos que avaliar a evolução da flora microbiana a partir do momento de “produção” e ao longo do tempo de exposição à temperatura ambiente das preparações culinárias durante a realização dos eventos, de modo a validar esses limites críticos.

A informação obtida pelos testes microbiológicos reflete o processamento e ambiente de fabrico, indicando também o risco do alimento se tornar um perigo para a saúde ou se deteriorar durante o tempo de prateleira. Como referido anteriormente, as análises microbiológicas não garantem a segurança do produto final. Esta é assegurada pela aplicação do sistema HACCP aliado ao cumprimento dos pré-requisitos ou BPF/BPH (Forsythe, 2002; Maunsell, 2003; Bolton e Maunsell, 2004). Contudo, as análises microbiológicas podem constituir uma parte do sistema, no âmbito da verificação e validação do plano HACCP (Forsythe, 2002; Jouve, 2002; Gaze *et al.*, 2002; Coleman, 2003; Friedhoff *et al.*, 2005).

Nos estudos de avaliação da qualidade microbiológica de alimentos são aplicados protocolos analíticos estabelecidos para avaliar a frequência e nível de contaminação dos alimentos por microrganismos indicadores (mesófilos aeróbios, bolores e leveduras, coliformes) e patogénicos. No entanto, esta avaliação pode ser dificultada pela complexidade da interpretação dos resultados das análises microbiológicas (Jay, 2000; Santos, Correia, Cunha, Saraiva & Novais, 2005).

Em 2005 foram publicados pelo INSA valores-guia para a apreciação dos resultados de análises microbiológicas quantitativas e qualitativas em **alimentos prontos a consumir** servidos na restauração (Santos *et al.*, 2005). As análises microbiológicas realizadas neste estudo tiveram em conta os critérios microbiológicos dos valores-guia elaborados pelo INSA e encontram-se explicitados na Tabela seguinte.

Tabela 4 – Valores-guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer (Fonte: Santos *et al.*, 2005)

Microrganismo	Grupo de alimentos	Qualidade Microbiológica (ufc/g quando não indicado)			
		Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório	Inaceitável / potencialmente perigoso
Microrganismos a 30°C	I	$\leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^4$	$> 10^4$	NA
	II	$\leq 10^3$	$> 10^3 \leq 10^5$	$> 10^5$	NA
	III	$\leq 10^4$	$> 10^4 \leq 10^6$	$> 10^6$	NA
<i>Enterobacteriaceae</i> *	I	≤ 10	$> 10 \leq 10^2$	$> 10^2$	NA
	II	≤ 10	$> 10 \leq 10^3$	$> 10^3$	NA
	III	$\leq 10^2$	$> 10^2 \leq 10^4$	$> 10^4$	NA
<i>E. coli</i>	I, II	< 10	NA	≥ 10	NA
	III	≤ 10	$> 10 < 10^2$	$\geq 10^2$	NA

* Foram assumidos os valores dos “coliformes fecais” referidos pelos autores

Estes critérios microbiológicos constituem linhas de orientação para a avaliação da qualidade ou segurança dos produtos segundo quatro níveis: **satisfatório, aceitável, não satisfatório ou inaceitável/ potencialmente perigoso**. Os valores-guia são aplicáveis no período de vida de prateleira do alimento e não durante a sua produção.

É de salientar que em vez do critério “coliformes fecais” referido nos valores guia do INSA no nosso estudo optou-se pelo critério “*Enterobacteriaceae*”, pois apesar de pertencerem ao grupo dos coliformes, trata-se de coliformes fecais tendo mais interesse do ponto de vista microbiológico.

Ainda de acordo com estes valores-guia, os **alimentos prontos a consumir** podem ser divididos em três (3) grupos, de acordo com o tipo de ingredientes que entram na sua composição, o tratamento térmico ou outro procedimento que lhe seja aplicado (Tabela 5).

Tabela 5 – Grupo de alimentos prontos a comer (Fonte: Santos *et al.*, 2005)

Grupo	Produtos	Exemplos
I	Refeições / Sandes / Bolos / Sobremesas doces com ingredientes totalmente cozinhados, ou adicionados de especiarias, ervas aromáticas secas, desidratadas ou tratadas por radiação ionizante, de produtos UHT e de maionese industrializada	Feijoada Pizza Bacalhau à Brás com salsa previamente processada Salada de batata com maionese industrial Pastéis de bacalhau / Croquetes / Rissóis Sandes de carne assada Sandes de pâté de atum (maionese industrial) Omeleta de queijo / fiambre Mousse de chocolate instantânea Bolo de chocolate Arroz doce com ou sem canela Gelatinas Salada de fruta / Fruta laminada em calda
II	Refeições / Sandes / Bolos / Sobremesas doces cozinhadas adicionadas de ingredientes crus e/ou com flora específica própria	Salada de batata com tomate / alface Salada de feijão-frade com atum, salsa e cebola picada ou molho vinagrete Prato de peixe / carne / ovos adicionado de salada de vegetais ou frutos Bacalhau à Brás com salsa crua e/ou azeitonas Sandes de carne assada com alface Mousse de chocolate Pudins com fruta ao natural Salada de fruta em calda adicionada de fruta natural
III	Saladas / Vegetais / Frutos crus	Alface Tomate Cenoura Couve roxa Salada de frutas Fruta ao natural laminada Morangos

Neste estudo foram analisadas “preparações culinárias” pertencentes aos 3 grupos de alimentos.

II- MATERIAIS E MÉTODOS

II.1- MATERIAIS

No que diz respeito aos **meios de cultura**, foram utilizados os discriminados na tabela seguinte:

Meio de cultura	Pesquisa	Morfologia das colónias características
APT: Água Peptonada Tamponada	(Diluyente para crescimento e pré-enriquecimento)	--
PCA: Plate Count Agar (Biokar Diagnostics BK144HA)	Contagem de mesófilos	--
TBX: Tryptona Bile Glucuronídeo (Biokar Diagnostics BK146HM)	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	Colónias azuis
VRBGA: Violet Red Bile Glucose Agar (Biokar Diagnostics BK011HA)	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	Colónias ligeiramente vermelhas/cor-de-rosa com ou sem halo de precipitação, translúcidas ou baças

Tabela 6 – Meios de cultura usados nas análises microbiológicas

II.2- MÉTODOS

II.2.1- Definição do plano de amostragem

II.2.1.1- Seleção dos locais de recolha e mês de realização dos eventos

A recolha das amostras foi efetuada nos meses geralmente mais quentes do ano (Julho a Setembro) para ter as preparações culinárias sujeitas às piores condições de exposição, mas, por questões relacionadas com a atividade da empresa de “Catering”, as recolhas prolongaram-se até Outubro e não houve recolhas em Agosto.

As amostras foram ainda, prioritariamente, colhidas em eventos onde estivessem sujeitas a tempos de exposição mais prolongados e a temperaturas ambiente mais elevadas ou onde não existissem equipamentos frigoríficos suficientes para manter os alimentos refrigerados/congelados após o empratamento e até serem servidos ao cliente.

II.2.1.2- Seleção das preparações culinárias

Foram selecionadas da vasta lista de preparações culinárias constantes dos menus da empresa de “Catering”, as preparações culinárias mais críticas em termos de segurança alimentar. Para tal tivemos em conta os três grupos de alimentos que constam dos valores guia do INSA e os seguintes critérios: com ou sem tratamento térmico, produzida na cozinha central, sujeita a etapa de regeneração no local do evento, com alguma manipulação no local do evento, com ingredientes/componentes críticos.

II.2.1.3- Classificação das amostras

Foram recolhidas amostras de 27 preparações culinárias. As preparações culinárias selecionadas foram agrupadas em 3 grupos de acordo com os “Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração” do INSA do seguinte modo:

Grupo de acordo com os valores-guia do INSA	Designação da preparação culinária	Subgrupo
I	Almôndegas	Q
	<i>Aumenieur</i> de crustáceos	Q
	Bacalhau com broa	Q
	Bacalhau com frutos do mar	Q
	Bolo de chocolate	F/GI
	Creme de lavagante	Q
	<i>Parfait</i> de manga	F/GI
	<i>Quiche lorraine</i>	F/GI
	Rissóis de camarão	Q
II	<i>Blinis</i> de queijo parmesão com curgetes	F/GII
	Bolo de morango	F/GII
	Canapé de patê de aves com <i>coulli</i> de framboesa	F/GII
	Canapé de queijo <i>chèvre</i> com pistácio	F/GII
	Canapé de salmão fumado com alcaparras	F/GII
	<i>Carpaccio</i> de salmão	F/GII
	Terrina de faisão	F/GII
	Rosbife à inglesa	F/GII
	Salada de queijo mozzarella com tomate <i>cherry</i>	F/GII
	Salada verde com <i>magret</i> de pato fumado e parmesão	F/GII
	Sapateira recheada	F/GII
	<i>Sashimi / Sushi</i>	F/GII
III	Abacaxi	FL/PAC
	Kiwi	FL/DLE
	Manga	FL/PAC
	Melão	FL/PAC
	Papaia	FL/DLE
	Salada ibérica	S

Legenda: Q = Prato servido quente; F/GI = prato servido frio do grupo I; F/GII = prato servido frio do grupo II; FL/PAC = fruta laminada 4ª gama; FL/DLE = fruta laminada descascada no local do evento; S = salada

Tabela 7 – Distribuição das preparações culinárias analisadas pelos Grupos dos “Valores Guia” do INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge)

II.2.2- Avaliação microbiológica

De seguida tivemos que seleccionar quais os parâmetros microbiológicos a usar, tendo-se optado pelos seguintes parâmetros:

- Contagem de mesófilos (NP 4405: 2002);
- Contagem de *Enterobacteriaceae* (NP 4137: 1991);
- Contagem de *Echerichia coli* (NP 4396: 2002).

II.2.3- Colheita das amostras

As amostras colhidas para análise microbiológica foram recolhidas em eventos organizados por uma empresa de “Catering” com cozinha central na zona de Lisboa e pertencente a um grupo do sector de restauração nacional. Os eventos realizaram-se na zona da Grande Lisboa e na zona de Setúbal. Os locais dos eventos variaram entre locais onde geralmente são realizados eventos, locais temporários (tendas), quintas e cozinha do cliente.

II.2.3.1- Tempos de recolha

Após análise das condições reais a que os produtos alimentares estão geralmente expostos nos eventos e de acordo com a nossa experiência na área, as amostras de cada preparação culinária foram recolhidas a intervalos de tempos de exposição regulares de acordo com a tabela seguinte:

Tempo de recolha	Código	Observações
No início da preparação/exposição	T ₀	--
2h após exposição a temperatura não controlada	T ₂	--
4h após exposição a temperatura não controlada	T ₄	--
6h após exposição a temperatura não controlada	T ₆	--
8h após exposição a temperatura não controlada	T ₈	Apenas para as frutas e sobremesas*
10h após exposição a temperatura não controlada	T ₁₀	Apenas para as frutas e sobremesas*

* Foram considerados estes tempos de recolha extra, porque em muitos eventos as frutas e as sobremesas estão em exposição à temperatura ambiente desde o início até ao final do evento.

Tabela 8 – Tempos de recolha das amostras das preparações culinárias

No caso das *preparações culinárias servidas quentes* (tais como almôndegas, bacalhau com broa, bacalhau com frutos do mar) a exposição a temperatura não controlada refere-se à manutenção da preparação culinária, após reaquecimento/ confeção, nas estufas até ao empratamento ou em “rechaud” aquecido por lamparina ou à temperatura ambiente até ser servido ao cliente (ver Figura 2), com exceção dos “rissóis de camarão”, que eram regenerados no local do evento e depois mantidos à temperatura ambiente até serem consumidos pelo cliente quer fosse na cozinha de apoio ao evento quer na mesa de “buffet”.

Para *preparações culinárias servidas frias* (saladas, canapés, sobremesas, etc.) a exposição a temperatura não controlada refere-se a todo o tempo a que está à

temperatura ambiente desde que chega da cozinha central na carrinha de frio (onde veio transportada até ao local do evento).

É ainda importante realçar que, no caso de preparações culinárias que se alteram muito rapidamente em termos organoléticos (no nosso estudo temos a preparação culinária “*carpaccio* de salmão”) optámos por fazer recolha com intervalos de 1 hora até um máximo de 3 horas de exposição (T_0 , T_1 , T_2 e T_3), pois o seu tempo de exposição nunca ultrapassa as 2 horas.

II.2.3.2- Condições de recolha e transporte

As amostras foram recolhidas, sempre que possível, durante a realização de eventos organizados pela empresa de catering tendo em atenção o fluxograma seguinte:

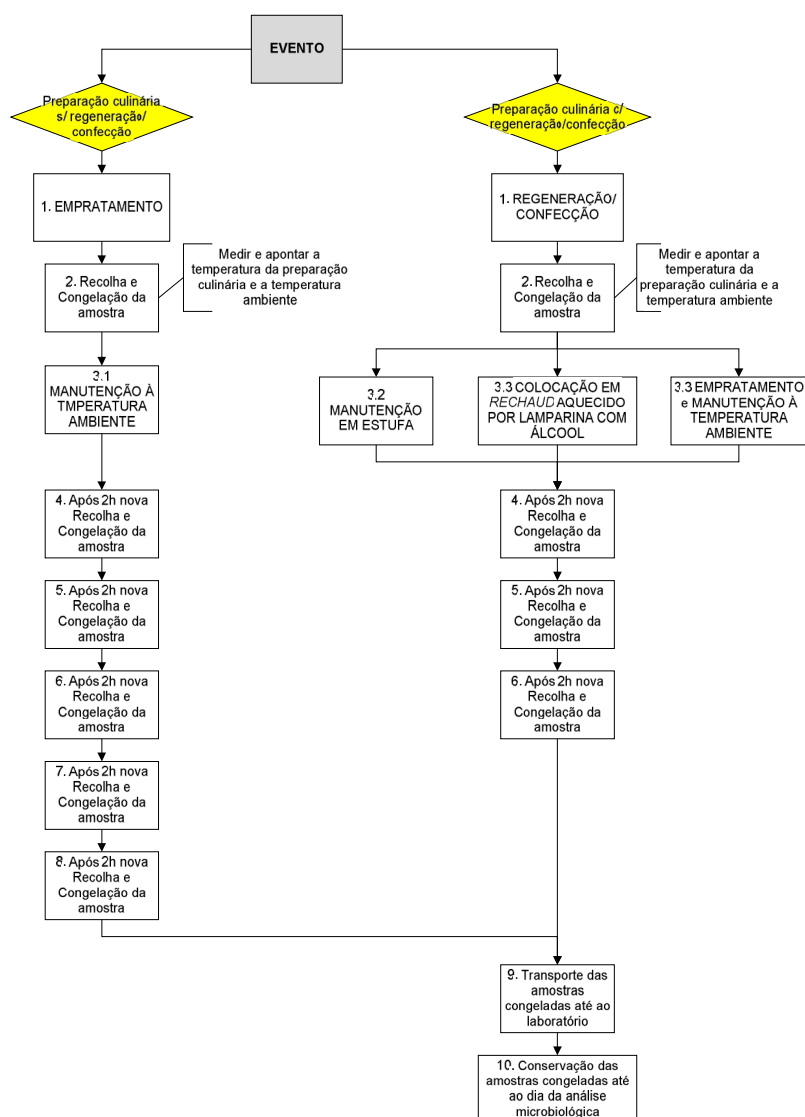


Figura 2 – Fluxograma de recolha, transporte e armazenamento de amostras

II.2.3.2.1- Colheita das amostras

As amostras foram recolhidas e colocadas em saco estéril, selado e etiquetado com os dados código do prato e tempo de exposição (T_0 , T_2 , T_4 , T_6 , T_8 , T_{10}) e imediatamente congeladas. Optou-se pelo procedimento de congelação dado que a maioria das recolhas eram efetuadas ao fim-de-semana e que o tempo máximo de conservação em ambiente refrigerado é de 24 horas como é referenciado na Norma ISO 7218: 2007.

A colheita das amostras foi realizada de acordo com o procedimento definido na Norma ISO 7218: 2007.

Para cada preparação culinária foi ainda preenchido um documento – **Checklist de Caracterização de Amostra** (ver Anexo I) - que nos permitiu compilar o “histórico” das amostras recolhidas para cada preparação culinária, nomeadamente a sua identificação (denominação do prato, local de recolha e data da recolha) e outras informações adicionais relevantes relacionadas com as condições observadas durante a recolha: ingredientes críticos; manipulação; características organoléticas do produto; proteção do produto ao chegar e durante o evento; etiquetagem; proteção individual dos colaboradores; condições das instalações; temperatura do alimento à chegada do evento, no início do empratamento e em todos os tempos de recolha; temperatura ambiente aquando da chegada da preparação culinária ao evento, no início do empratamento e em todos os tempos de recolha.

II.2.3.2.2- Transporte das amostras para análise microbiológica

As amostras foram transportadas em mala isotérmica com termoacumuladores, a uma temperatura aproximada de 4°C, até ao Laboratório de Microbiologia da Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril (ESHTE).

II.2.4- PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE

As amostras para análise foram preparadas de acordo com procedimento estipulado na Norma ISO 7218: 2007 e esquematizado no seguinte fluxograma:

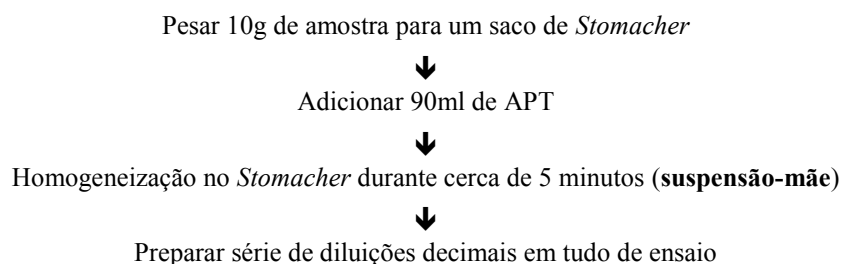


Figura 3 – Fluxograma de tratamento das amostras para análise microbiológica

II.2.5- REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

II.2.5.1- Contagem de microrganismos a 30°C (mesófilos)

A metodologia usada e baseada na norma NP 4405:200 encontra-se resumida no fluxograma seguinte:

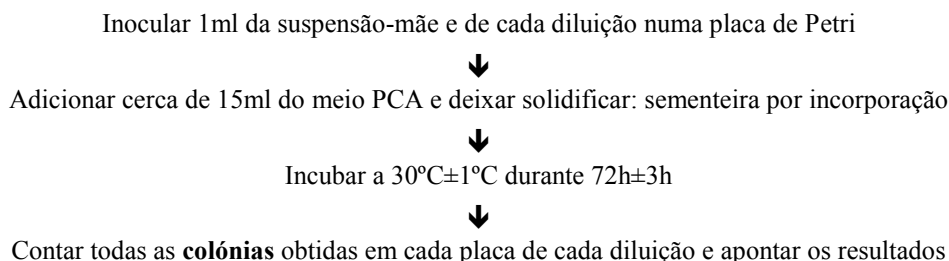


Figura 4 – Fluxograma que resume o procedimento para a pesquisa “Contagem de microrganismos a 30°C”

II.2.5.2- Contagem de *Enterobacteriaceae*

A metodologia usada e baseada na norma NP 4137:1991 encontra-se resumida no fluxograma seguinte:

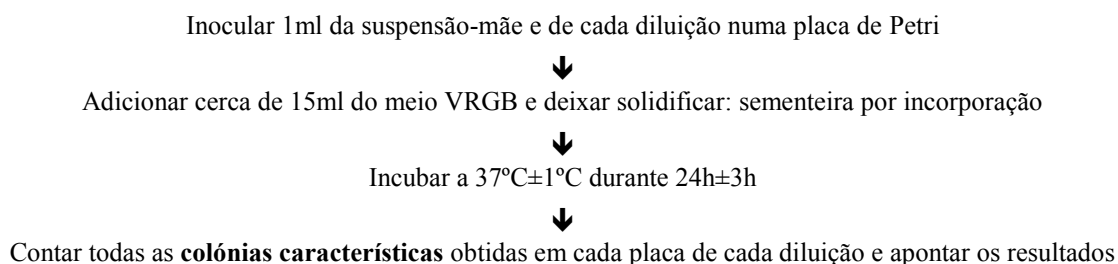


Figura 5 – Fluxograma que resume o procedimento para a pesquisa “Contagem de enterobactérias”

II.2.5.3- Contagem de *Escherichia coli*

A metodologia usada e baseada na norma NP 4396:2002 encontra-se resumida no fluxograma seguinte:

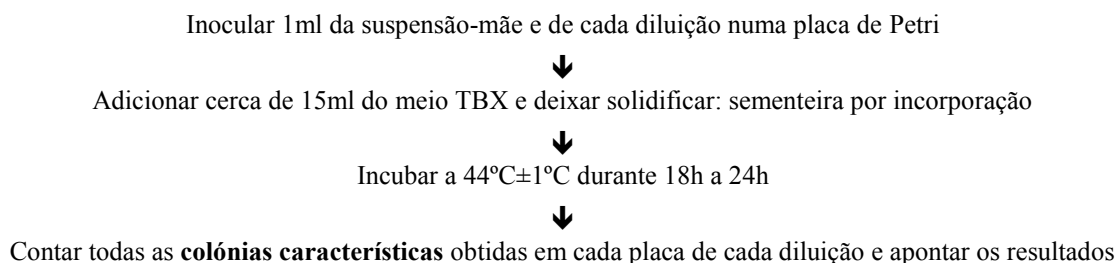


Figura 6 – Fluxograma que resume o procedimento para a pesquisa “Contagem de *E. coli*”

II.2.6- TRATAMENTO DOS RESULTADOS

Realizou-se a análise quantitativa, descritiva e comparativa dos resultados recorrendo ao programa informático “Statistic Package for the Social Sciences” (SPSS), versão 17.0 for Windows (release 17.0.1, Dezembro 2008, IBM, USA).

Inicialmente todos os valores de contagens obtidos (resultados analíticos) e todos os valores de temperatura medidos foram inseridos numa base de dados, considerando as seguintes variáveis:

Variável	Descrição	Codificação	Tipo
Grupo	Grupo dos critérios de avaliação da qualidade microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer do INSA a que pertence a preparação culinária	I – 1 II – 2 III – 3	Nominal
Subgrupo	Subgrupo das preparações culinárias	Q – prato quente F/GI – prato frio do grupo I F/GII – prato frio do grupo II FL/PAC – fruta laminada 4ª gama FL/DLE – fruta laminada descascada no local do evento S – Salada	Nominal
Análise	Número da repetição da análise	--	Nominal
Mês	Mês do evento em que se fez a recolha	7 – Julho 9 – Setembro 10 – Outubro	Nominal
Tempo	Tempo de exposição	1 – 0 horas 2 – 2 horas 3 – 4 horas 4 – 6 horas 5 – 8 horas 6 – 10 horas	Ordinal
Ta	Temperatura ambiente a que estava sujeita a preparação culinária quando foi efetuada a colheita	--	Escalar
Tp	Temperatura do produto quando efetuada a colheita	--	Escalar
Mesófilos	Contagem de mesófilos (variável resposta)	--	Escalar
Enterobactérias	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> (variável resposta)	--	Escalar
Ecoli	Contagem de <i>Escherichia coli</i> (variável resposta)	--	Escalar

Tabela 9 – Caracterização das variáveis usadas no tratamento estatístico dos resultados

Dada a distribuição exponencial do crescimento microbiano e para facilitar o nosso tratamento dos resultados, aplicou-se o logaritmo decimal às variáveis resposta da **Tabela 9**, obtendo-se assim 3 novas variáveis na nossa base de dados:

Variável	Descrição	Codificação	Tipo
LogMesófilos	Logaritmo da contagem de mesófilos (variável resposta)	--	Escalar
LogEnterobactérias	Logaritmo da contagem de enterobactérias (variável resposta)	--	Escalar
LogEcoli	Logaritmo da contagem de <i>E. coli</i> (variável resposta)	--	Escalar

Tabela 10 – Caracterização das variáveis resultantes da logaritmização das variáveis resposta

Para facilitar o nosso tratamento dos resultados, tivemos ainda que categorizar as variáveis resposta de acordo com os critérios do INSA, surgindo assim 3 novas variáveis de acordo com a **Tabela 11**.

Variável	Descrição	Codificação	Tipo
MesCat	Contagens de mesófilos categorizadas (variável resposta)	Satisfatório – 1 Aceitável – 2 Não satisfatório - 3	Ordinal
EntCat	Contagens de enterobactérias categorizadas (variável resposta)	Satisfatório – 1 Aceitável – 2 Não satisfatório - 3	Ordinal
EcoliCat	Contagens de <i>E. coli</i> categorizadas (variável resposta)	Satisfatório – 1 Não satisfatório - 3	Ordinal

Tabela 11 – Caracterização das variáveis resultantes da categorização das variáveis resposta

São estas 9 variáveis (Mesófilos, Enterobactérias, Ecoli, *LogMesófilos*, *LogEnterobactérias*, *LogEcoli*, *MesCat*, *EntCat* e *EcoliCat*) que vão ser usadas nos gráficos da apresentação e discussão dos resultados.

III- RESULTADOS

III.1- Estatística descritiva: caracterização da amostra em estudo

No **Anexo II** apresenta-se uma tabela que compila todos os resultados obtidos nas análises microbiológicas, tanto em “unidades formadores de colónias por grama” (ufc/g) como em “logaritmo decimal” (log), e que constituiu a nossa base de dados.

Numa primeira fase efetuou-se uma breve análise exploratória dos dados completos (estatística descritiva), de modo a caracterizarmos a nossa amostra.

Através da Tabela de Frequências das variáveis “Grupo” e “Mês” constatamos que foi recolhido um total de **68 amostras**, num total de 22 eventos, nuns casos com 4 réplicas (correspondentes aos tempos T_0 , T_2 , T_4 e T_6), nos outros casos 6 réplicas (correspondentes aos tempos T_0 , T_2 , T_4 , T_6 , T_8 e T_{10}) e, como exceção, 2 amostras apresentam apenas 3 réplicas, porque ao fazer-se a análise crítica dos dados detetou-se que uma das réplicas em cada uma destas amostras não apresentava registo correto. As réplicas também podem ser designadas por **unidades amostrais**.

Assim, temos um total de **290 análises microbiológicas** e para cada análise foram estudados 3 parâmetros - contagem de mesófilos, contagem de *Enterobacteriaceae* e contagem de *E. coli* (variáveis resposta).

Pela análise do gráfico (Figura 7) verificamos que 46% das recolhas foram efetuadas no mês de Julho, 33% no mês de Setembro e 21% em Outubro.

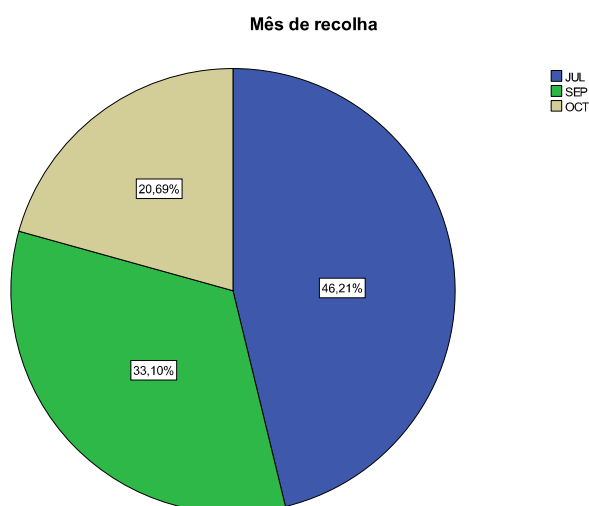
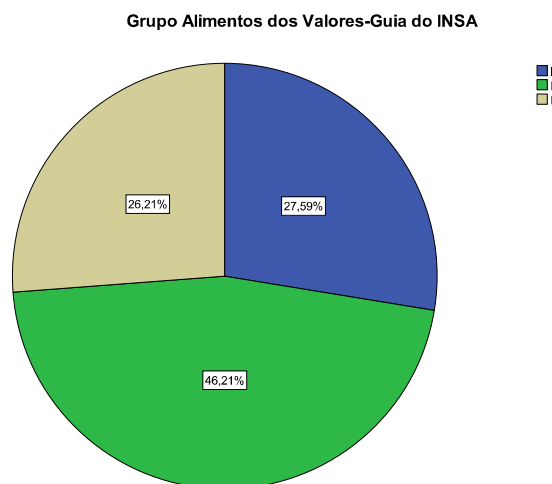


Figura 7 – Distribuição das frequências para a variável “Mês”

Para a variável “Grupo” e pelo gráfico (Figura 8) podemos afirmar que 46% das análises foram efetuadas em preparações culinárias do grupo II, 28% do grupo I e 26% do grupo III.

Figura 8 – Distribuição das frequências para a variável “Grupo”



Em relação às frequências da variável “grupo”, pela análise do gráfico (Figura 9), constatamos que:

- para o Grupo I foram efetuadas 36 recolhas em Julho, 24 em Setembro e 20 em Outubro;
- para o Grupo II foram efetuadas 40 recolhas em Julho, 72 recolhas em Setembro e 22 recolhas em Outubro;
- para o Grupo III foram efetuadas 58 recolhas em Julho, 0 (zero) recolhas em Setembro e 18 recolhas em Outubro.

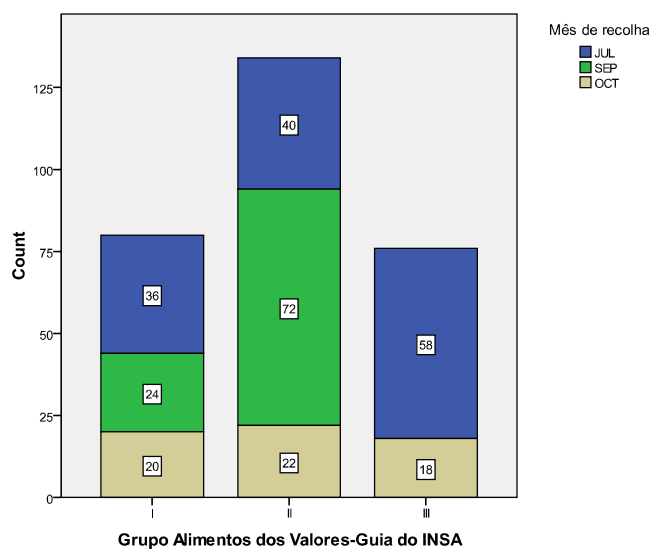


Figura 9 – Distribuição da(s) variável(eis) resposta pelos diferentes meses

A distribuição das variáveis “Contagem de mesófilos”, “Contagem de enterobactérias” e “Contagem de *E. coli*” nos vários grupos pode ser visualizada no gráfico e tabela seguintes:

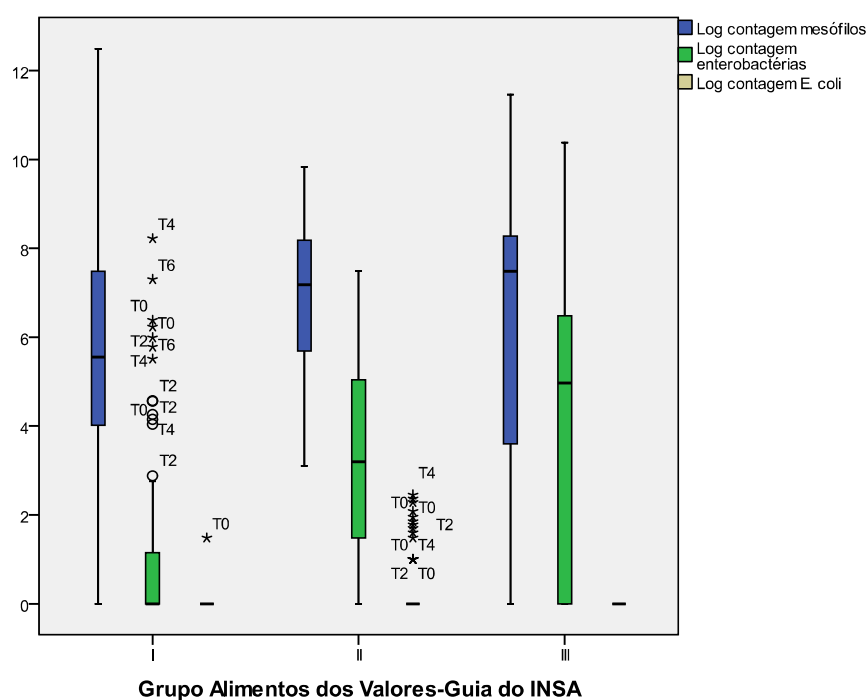


Figura 10 – Distribuição das amostras de cada grupo de alimentos para cada parâmetro analisado

Microrganismos	Produto	Mínimo (ufc/g)	Máximo (ufc/g)	Média (ufc/g)	Mediana (ufc/g)	Desvio Padrão (ufc/g)	CV ¹ (%)
Mesófilos	Total	0,00	$3,10 \times 10^{12}$	$2,02 \times 10^{10}$	$7,30 \times 10^6$	$2,00 \times 10^{11}$	990
	Grupo I	0,00	$3,10 \times 10^{12}$	$6,31 \times 10^{10}$	$3,6 \times 10^5$	$3,77 \times 10^{11}$	597
	Grupo II	$1,30 \times 10^3$	$6,7 \times 10^9$	$1,96 \times 10^8$	$1,55 \times 10^7$	$4,65 \times 10^6$	2,37
	Grupo III	0,00	$2,90 \times 10^{11}$	$1,04 \times 10^{10}$	$3,00 \times 10^7$	$3,75 \times 10^{10}$	361
Enterobacteriaceae	Total	0,00	$2,40 \times 10^{10}$	$8,65 \times 10^7$	$4,75 \times 10^2$	$1,41 \times 10^9$	1630
	Grupo I	0,00	$1,70 \times 10^8$	$2,45 \times 10^6$	0,00	$1,91 \times 10^7$	780
	Grupo II	0,00	$3,10 \times 10^7$	$1,32 \times 10^6$	$1,60 \times 10^3$	$4,65 \times 10^6$	352
	Grupo III	0,00	$2,4 \times 10^{10}$	$3,25 \times 10^8$	$9,80 \times 10^4$	$2,75 \times 10^9$	846
Escherichia coli	Total	0,00	$2,80 \times 10^2$	$4,28 \times 10^0$	0,00	$2,63 \times 10^1$	614
	Grupo I	0,00	$3,00 \times 10^1$	$3,75 \times 10^{-1}$	0,00	$3,35 \times 10^0$	893
	Grupo II	0,00	$2,80 \times 10^2$	$9,03 \times 10^0$	0,00	$3,81 \times 10^1$	422
	Grupo III	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	--

¹ CV = (Desvio Padrão / Média) x 100%

Tabela 12 – Estatística Descritiva dos Resultados

Através da leitura da Tabela 12 podemos observar que os valores da média e da mediana de **mesófilos** na amostra total e nas amostras do grupo I, grupo II e grupo III

são, respetivamente $2,02 \times 10^{10}$ ufc/g e $7,30 \times 10^6$ ufc/g, $6,31 \times 10^{10}$ ufc/g e $3,6 \times 10^5$ ufc/g, $1,96 \times 10^8$ ufc/g e $1,55 \times 10^7$ ufc/g e $1,04 \times 10^{10}$ ufc/g 3 $3,00 \times 10^7$ ufc/g.

Os valores apresentados para cada um dos grupos são relativamente próximos, sendo de referir que a dispersão dos resultados para os grupos I e III é muito grande (valores de desvio padrão e coeficiente de variação (CV) muito elevados). Para os resultados do grupo II a dispersão é bastante menor (valores de desvio padrão e CV bastante menores) o que também pode ser visualizado através do diagrama de extremos e quartis (Figura 10) onde a dimensão das caixas é muito menor no grupo II.

Para as *Enterobacteriaceae*, os valores da média e da mediana na amostra total, no grupo I, no grupo II e no grupo III de preparações culinárias são, respetivamente, $8,65 \times 10^7$ ufc/g e $4,75 \times 10^2$ ufc/g, $2,45 \times 10^6$ ufc/g e 0,00 ufc/g, $1,32 \times 10^6$ e $1,60 \times 10^3$ ufc/g e $3,35 \times 10^8$ ufc/g e $9,80 \times 10^4$ ufc/g.

Os valores das contagens para as *Enterobacteriaceae* são muito díspares entre os diferentes grupos e constata-se, mais uma vez, que o grupo II é o que apresenta uma menor dispersão dos resultados em torno da média (valores de CV e desvio padrão inferiores).

Em relação aos resultados obtidos para a contagem de *Escherichia coli* observa-se que no grupo III não se obteve qualquer valor de contagem, no grupo I apenas uma amostra obteve uma contagem no T_0 (unidade amostral da preparação culinária “parfait de manga”) e no grupo II encontrámos valores de contagem mais elevados e num maior número de unidades amostrais (3 preparações culinárias deste grupo apresentaram contagens de *E. coli*: “canapé de patê de aves com coulli de framboesa”, “canapé de queijo chèvre com pistácio” e “sapateira recheada”).

III.2- Relação entre as variáveis resposta e a temperatura ambiente

Nesta fase, **separámos os dados por grupo e analisámos separadamente cada grupo** no que respeita à relação existente entre as variáveis resposta e a temperatura ambiente para cada uma das variáveis resposta.

Mesófilos

Primeiro verificámos se cada grupo alimentar apresentava distribuição normal para as variáveis “logmesófilos” e “temperatura ambiente” através do teste de Kolmogorov-

Smirnov e constatamos que o grupo I sim ($p < 0,05$), mas os grupos II e III não ($p > 0,05$). Aplicou-se então o teste de Pearson ao grupo I e o teste de Spearman aos grupos II e III. Constatamos que:

- no Grupo I existe uma relação significativa ($p = 0,026 < 0,05$) entre o crescimento de mesófilos e a temperatura ambiente, mas a correlação é fraca, pois $R = 0,244 (< 0,50)$;
- no Grupo II não se encontra evidência da relação entre a temperatura ambiente e o crescimento de mesófilos ($p = 0,393 > 0,05$);
- no grupo III encontra-se evidência estatisticamente significativa ($p = 0,000 < 0,05$) mas inversa ($R = - 0,489$) entre o crescimento de mesófilos e a temperatura ambiente, ou seja, à medida que a temperatura ambiente aumenta o crescimento de mesófilos diminui, mas esta correlação não chega a ser forte ($R = 0,489 < 0,50$).

Estas conclusões podem ser observadas através da observação das Figuras 11, 12 e 13, pois não se observa qualquer padrão nos gráficos de dispersão.

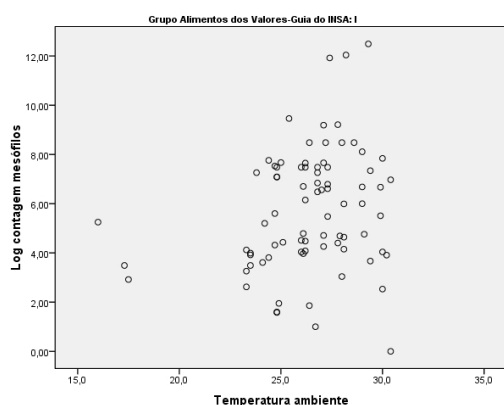


Figura 11 – Gráfico de dispersão para a variável “logmesófilos” e para o Grupo I

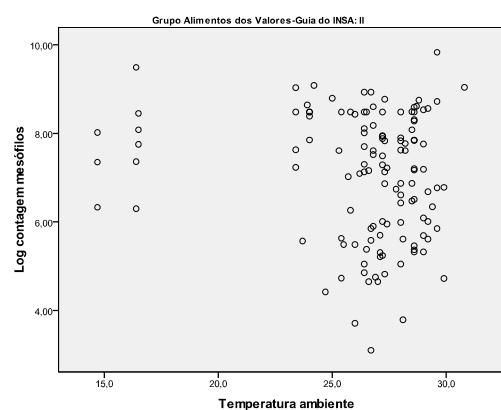


Figura 12 - Gráfico de dispersão para a variável “logmesófilos” e para o Grupo II

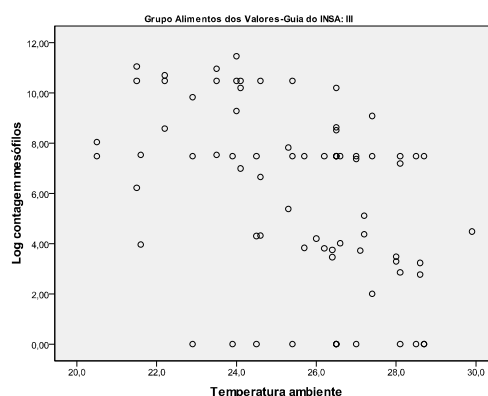


Figura 13 - Gráfico de dispersão para a variável “logmesófilos” e para o Grupo III

Enterobacteriaceae

Fizemos a mesma análise para a relação entre as contagens de enterobactérias e a temperatura ambiente e constatámos que nos 3 grupos não existe qualquer correlação entre a contagem de enterobactérias e a temperatura ambiente ($p > 0,05$ em todos os grupos no teste de Spearman).

Escherichia coli

Apenas faz sentido fazer esta análise para o Grupo II, pois no Grupo III não obtivemos qualquer contagem e no Grupo I apenas temos 1 resultado diferente de 0,00 ufc/g, mas constatámos que também não existe relação estatisticamente significativa entre a temperatura ambiente e as contagens de *Escherichia coli* ($p = 0,176 > 0,05$ no teste de Spearman).

Grupo I

Depois, tentámos ainda verificar a relação entre os meses e a variável resposta “logmesófilos”. Inicialmente testámos se as três amostras (Julho, Setembro e Outubro) eram provenientes de uma população com distribuição normal através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk, mas não se verificando a hipótese de normalidade ($p < 0,05$), tivemos que usar o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e obtivemos diferenças significativas, pois o *p-value* era inferior a 0,05.

Por tal facto, rejeitamos a igualdade nos três meses e fomos então comparar os resultados dos meses dois a dois, através do teste de Mann-Whitney e obtivemos os seguintes resultados:

- comparando Julho e Setembro obtivemos um $p = 0,001 (< 0,05 : \text{diferentes})$;
- comparando Julho e Outubro obtivemos um $p = 0,012 (< 0,05 : \text{diferentes})$;
- comparando Setembro e Outubro obtivemos um $p = 0,795 (> 0,05 : \text{iguais})$.

Deste modo, constatamos que a “contagem de mesófilos” nas amostras do grupo I é significativamente diferente nos meses de Julho e Setembro e de Julho e Outubro. No entanto, ao comparar os meses de Setembro e Outubro concluímos que a “contagem de mesófilos” nas preparações culinárias do Grupo I não difere significativamente entre estes dois meses.

Ainda no grupo I, para a variável “logenterobactérias” fizemos a mesma análise, mas como no teste de Kruskal-Wallis o *p-value* deu 0,081 ($> 0,05$) não existem diferenças

significativas nas contagens de enterobactérias nos meses de Julho, Setembro e Outubro.

Para a contagem de *E. coli* não vale a pena fazer a análise, pois apenas temos uma contagem diferente de 0,00 ufc/g.

Grupo II

Repetindo a mesma análise para o grupo II constatámos o seguinte:

- pelo teste de Kruskal-Wallis não existem diferenças significativas ($p > 0,05$) nas contagens de mesófilos, *Enterobacteriaceae* e *E. coli* entre os 3 meses.

Grupo III

Neste grupo, para as contagens de mesófilos, encontrámos diferenças significativas entre os meses pelo teste de Kruskal-Wallis ($p = 0,000 < 0,05$) e ao fazer a comparação dois a dois através do teste de Mann-Whitney verificámos o seguinte:

- não temos recolhas de alimentos deste grupo em Setembro;
- comparando Julho e Outubro obtivemos um $p = 0,000 (< 0,05 : \text{diferentes})$.

Para a contagem de enterobactérias, no grupo III, encontrámos diferenças significativas entre os meses pelo teste de Kruskal-Wallis ($p = 0,001 < 0,05$) e ao fazer a comparação dois a dois através do teste de Mann-Whitney verificámos o seguinte:

- não temos recolhas de alimentos deste grupo em Setembro;
- comparando Julho e Outubro obtivemos um $p = 0,001 (< 0,05 : \text{diferentes})$.

Para a contagem de *E. coli* não vale a pena fazer a análise, pois não obtivemos contagens.

III.3- Evolução das variáveis resposta nos diferentes subgrupos de alimentos

Dada a variedade de alimentos dentro de cada grupo e por termos uma fraca correlação e elevada dispersão de resultados, numa terceira fase, fomos verificar se existiam diferenças significativas entre os diferentes subgrupos de alimentos para cada uma das variáveis resposta.

Para a **contagem de mesófilos** esta diferença é evidente no gráfico da Figura 14. De fato, pelo gráfico constatamos as preparações culinárias do subgrupo “quentes” apresentam valores de contagem de mesófilos em média mais altos que todos os outros subgrupos. Depois são as preparações culinárias respeitantes ao subgrupo da “fruta laminada/PAC” que apresentam valores de contagem de mesófilos mais elevados. Os

restantes subgrupos apresentam valores médios de contagem de mesófilos similares e próximos de zero.

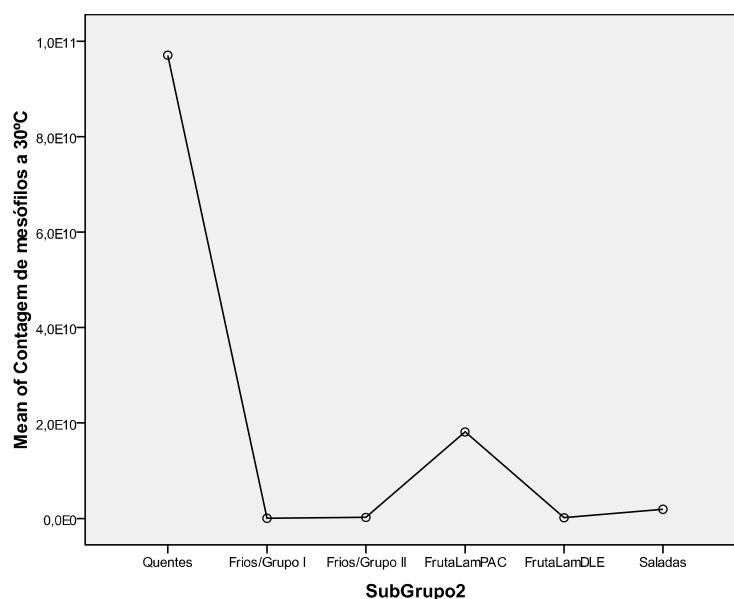


Figura 14 – Gráfico que compara as médias da variável “logmesófilos” entre subgrupos de alimentos

Para verificarmos se esta diferença era estatisticamente significativa, primeiro tivemos que verificar se, para cada subgrupo, a variável resposta em estudo tinha distribuição normal através do Teste de Kolmogorov-Smirnov. Como nuns subgrupos a distribuição era normal ($p > 0,05$) e noutros não ($p < 0,05$) tivemos que utilizar o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Para a variável “contagem de mesófilos”, obtivemos um $p = 0,000$ ($<0,005$) o que nos indica que há diferenças significativas entre os diferentes subgrupos de alimentos e ficámos a saber a ordenação decrescente das médias das classificações dos valores dos subgrupos: “fruta laminada/PAC” (171,15) > “frios/GII” (163,06) > “quentes” (122,52) > “fruta laminada /DLE” (99,06) > “frios/GI” (96,04) > “saladas” (82,88).

Fomos então comparar os subgrupos 2 a 2 através do teste de Mann Whitney para tentar perceber entre que subgrupos existiam essas diferenças e obtivemos os resultados expressos na Tabela 13.

Teste de Mann-Whitney entre os subgrupos das preparações culinárias						
Mesófilos	Fruta laminada/PAC	Frios/GII	Quentes	Fruta laminada/DLE	Frios/GI	Saladas
Fruta laminada/PAC	---	0,178	0,009*	0,019*	0,005*	0,005*
Frios/GII	0,178	---	0,001*	0,003*	0,000*	0,000*
Quentes	0,009*	0,001*	---	0,190	0,138	0,042*
Fruta laminada/DLE	0,019*	0,003*	0,190	---	0,492	0,945
Frios/GI	0,005*	0,000*	0,138	0,492	---	0,479
Saladas	0,005*	0,000*	0,042*	0,945	0,479	---

Tabela 13 – Comparação entre subgrupos para a variável resposta “logmesófilos”

Analisando os resultados obtidos na Tabela 13, sempre que $p < 0,05$ (**valores a negrito com ***) significa que há diferenças entre os 2 subgrupos (hipótese nula rejeitada) e sempre que $p > 0,05$ os 2 subgrupos são semelhantes (hipótese nula verdadeira). Deste modo, podemos afirmar com 95% de certeza que:

- não existem diferenças significativas entre as contagens de mesófilos do subgrupo “fruta laminada/PAC” e do subgrupo “frios/GII” ($p = 0,178$), e estes dois subgrupos constituem uma classe homogênea;
- não existem diferenças significativas entre as contagens de mesófilos do subgrupo “fruta laminada/DLE”, do subgrupo “frios/GI” e do subgrupo “saladas” ($p > 0,478$), e estes três subgrupos constituem uma classe homogênea;
- o subgrupo “quentes” encontra-se no meio destes dois conjuntos homogêneos aproximando-se mais do segundo do que do primeiro. Assim o subgrupo “quentes” não apresenta diferenças significativas em relação ao subgrupo “fruta laminada/DLE” ($p = 0,190$), e ao subgrupo “frios/GI” ($p = 0,138$) mas apresenta diferenças significativas nas contagens de mesófilos em relação ao subgrupo “saladas” ($p = 0,042$);

Para a **contagem de enterobactérias** esta diferença também é evidente no gráfico da Figura 15. De fato, pelo gráfico constatamos que as preparações culinárias dos subgrupos “quentes” e “frios/GI” apresentam valores de contagem de enterobactérias em média mais baixos que todos os outros subgrupos. Depois são as preparações culinárias respeitantes aos subgrupos “frios/GII”, “fruta laminada/PAC” e “fruta laminada/DLE” que apresentam valores de contagem de enterobactérias intermédias.

Depois é o subgrupo “saladas” que apresenta os valores médios de contagem de enterobactérias mais elevados.

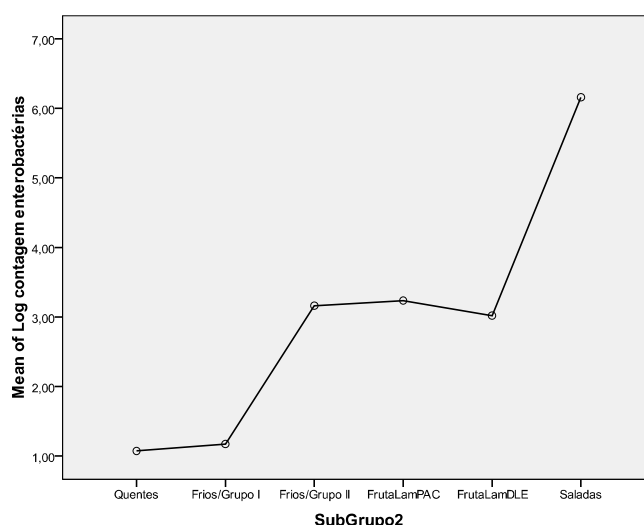


Figura 15 - Gráfico que compara as médias da variável “logenterobactérias” entre subgrupos de alimentos

Fazendo a mesma análise estatística para a variável **contagem de enterobactérias**, constatamos que nem todos os grupos tinham distribuição normal, pelo que tivemos que recorrer ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis que nos revelou a existência de diferenças significativas entre subgrupos para a variável em estudo ($p = 0,000 < 0,005$) e a ordem decrescente das médias das classificações dos valores dos subgrupos é a seguinte: “saladas” (239,94) > “frios/GI” (157,41) > “fruta laminada/DLE” (150,19) > “fruta laminada/PAC” (149,29) > “frios/GI” (94,63) > “quentes” (88,61).

Na comparação dos subgrupos 2 a 2 através do teste Mann-Whitney obtivemos os resultados expressos na Tabela 14.

Teste de Mann Whitney entre os subgrupos das preparações culinárias						
<i>Enterobacteriaceae</i>	Saladas	Frios/GII	Fruta laminada/DLE	Fruta laminada/PAC	Frios/GI	Quentes
Saladas	---	0,000*	0,001*	0,003*	0,000*	0,000*
Frios/GII	0,000*	---	0,796	0,839	0,000*	0,000*
Fruta laminada/DLE	0,001*	0,796	---	0,947	0,025*	0,001*
Fruta laminada/PAC	0,003*	0,839	0,947	---	0,016*	0,002*
Frios/GI	0,000*	0,000*	0,025*	0,016*	---	0,357
Quentes	0,000*	0,000*	0,001*	0,002*	0,357	---

Tabela 14 – Comparação entre subgrupos para a variável resposta “logenterobactérias”

Através da análise da Tabela 14 podemos afirmar com 95% de confiança que:

- há diferenças significativas entre as contagens de enterobactérias do subgrupo “saladas” e as dos restantes subgrupos ($p < 0,05$);
- não existem diferenças significativas entre as contagens de enterobactérias dos subgrupos “frios/GII”, “fruta laminada/DLE” e “fruta laminada/PAC” ($p > 0,05$) e constituem um grupo homogéneo;
- não existem diferenças significativas ($p = 0,357 > 0,05$) entre as contagens de enterobactérias dos subgrupos “quentes” e “frios/GI”, ou seja, o grupo I de alimentos é um grupo homogéneo no que diz respeito à contagem de enterobactérias;
- existem diferenças significativas entre as contagens do subgrupo “frios/GI” e os subgrupos “saladas” ($p = 0,000$), “frios/GII” ($p = 0,000$), “fruta laminada/DLE” ($p = 0,025$) e “fruta laminada/PAC” ($p = 0,016$);
- existem diferenças significativas entre as contagens do subgrupo “quentes” e os subgrupos “saladas” ($p = 0,00$), “frios/GII” ($p = 0,000$), “fruta laminada/DLE” ($p = 0,001$) e “fruta laminada/PAC” ($p = 0,002$).

III.4- Variáveis resposta categorizadas ao longo do tempo de exposição

Numa segunda fase, após leitura e interpretação dos resultados as unidades amostrais foram classificadas em satisfatório, aceitável e não satisfatório de acordo com os valores-guia do INSA descritos na Tabela 4 (capítulo Introdução).

Percentagem de unidades amostrais dentro dos seguintes intervalos (%)			
Microrganismos	Satisfatório	Aceitável	Não satisfatório
Mesófilos	10,3	12,1	77,6
Enterobactérias	40,7	14,1	45,2
<i>E. coli</i>	94,5	---	5,5

Tabela 15 – Tabela de frequências das variáveis resposta categorizadas

Assim, da análise das replicadas das amostras totais verifica-se que a percentagem de unidades amostrais “satisfatórias” é muito reduzida sendo de apenas 10,3% quanto aos mesófilos e de 40,7% nas enterobactérias. Apenas para a variável “contagem de *E. coli*” encontramos 94,5% de unidades amostrais satisfatórias.

Contudo, como algumas unidades amostrais referem-se ao tempo zero (T_0) de exposição, outras ao T_2 e por aí em diante, efetuou-se a mesma análise, mas tendo em consideração o tempo de exposição e o grupo alimentar para cada um dos critérios microbiológicos. Os resultados obtidos estão resumidos nas Tabelas 16, 17 e 18.

		Percentagem de unidades amostrais (%)					
		Tempo de exposição					
Grupo	Mesófilos	T_0	T_2	T_4	T_6	T_8	T_{10}
I	Satisfatório	10,0	5,0	10,0	5,0	--	--
	Aceitável	30,0	30,0	5,0	5,0	--	--
	Não Satisfatório	60,0	65,0	85,0	90,0	--	--
II	Satisfatório	8,8	5,9	11,8	12,5	--	--
	Aceitável	0,0	0,0	0,0	0,0	--	--
	Não Satisfatório	91,2	94,1	88,2	87,5	--	--
III	Satisfatório	42,9	42,9	35,7	14,3	30,0	20,0
	Aceitável	7,1	0,0	7,1	35,7	10,0	0,0
	Não Satisfatório	50,0	57,1	57,2	50,0	60,0	80,0

Tabela 16 – Associação entre a “contagem de mesófilos” e o “tempo de exposição” para cada grupo de alimentos

Para a “contagem de mesófilos”, de uma maneira geral verifica-se que a quantidade de unidades amostrais não satisfatórias no momento inicial é muito elevada em todos os grupos alimentares, sendo no grupo I de 61,9% (12 em 20), no grupo II de 91,2% (31 em 34) e no grupo III de 50% (7 em 14).

Também se verifica que no grupo I há uma degradação, com aumento significativo das unidades amostrais não satisfatórias com o aumento do tempo de exposição ($p = 0,013 < 0,05$). O mesmo já não se constata no grupo II ($p = 0,465$) e no grupo III, apesar de apresentar uma degradação (no T_0 temos 6 amostras satisfatórias e no T_{10} temos apenas 2 amostras satisfatórias), ela não é estatisticamente relevante ($p = 0,167 > 0,05$).

		Percentagem de unidades amostrais (%)					
		ao longo do Tempo de exposição					
Grupo	Enterobactérias	T ₀	T ₂	T ₄	T ₆	T ₈	T ₁₀
I	Satisfatório	70,0	80,0	75,0	75,0	--	--
	Aceitável	10,0	0,0	5,0	5,0	--	--
	Não Satisfatório	20,0	20,0	20,0	20,0	--	--
II	Satisfatório	23,5	26,5	23,5	21,9	--	--
	Aceitável	29,4	17,6	14,7	21,9	--	--
	Não Satisfatório	47,1	55,9	61,8	56,2	--	--
III	Satisfatório	28,6	35,7	35,7	21,4	50,0	40,0
	Aceitável	14,3	14,3	7,1	14,3	10,0	10,0
	Não Satisfatório	57,1	50,0	57,2	64,3	40,0	50,0

Tabela 17 – Associação entre a “contagem de enterobactérias” e o “tempo de exposição” para cada grupo de alimentos

Não se observam degradações estatisticamente significativas com tempo de exposição ($p > 0,05$ em todos os casos), mas a percentagem de unidades amostrais não satisfatórias no T₀ é elevada nos grupos II (47,1%) e III (57,1%) no caso das contagens de *Enterobacteriaceae*.

		Percentagem de unidades amostrais (%)					
		ao longo do Tempo de exposição					
Grupo	<i>Escherichia coli</i>	T0	T2	T4	T6	T8	T10
I	Satisfatório	95,0	100	100	100	--	--
	Não Satisfatório	5,0	0,0	0,0	0,0	--	--
II	Satisfatório	85,3	82,4	91,2	96,9	--	--
	Não Satisfatório	14,7	17,6	8,8	3,1	--	--
III	Satisfatório	100	100	100	100	100	100
	Não Satisfatório	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 18 – Associação entre a “contagem de *Escherichia coli*” e o “tempo de exposição” para cada grupo de alimentos

De uma maneira geral, o número de unidades amostrais satisfatórias é elevada. No grupo II há uma tendência para o aumento das contagens de *E. coli* com o tempo de exposição ($p = 0,057$ muito próximo de 0,05, valor estatisticamente significativo). No grupo III todas as unidades amostrais são satisfatórias para este critério e mantêm-se ao longo do tempo.

III.5- Avaliação da Qualidade Microbiológica das Preparações Culinárias

Nesta fase procurámos avaliar cada amostra recolhida tendo em conta os parâmetros microbiológicos avaliados e os valores-guia do INSA.

Para que uma amostra seja considerada satisfatória na globalidade, terá que ser satisfatória nos 3 parâmetros avaliados.

Qualidade global		Grupo I <i>Enterobacteriaceae</i>			Grupo II <i>Enterobacteriaceae</i>			Grupo III <i>Enterobacteriaceae</i>		
<i>E. coli</i>	Mesófilos	Sat	Ac	NSat	Sat	Ac	NSat	Sat	Ac	NSat
Sat	Sat	Sat 2,13%	Ac 0%	NSat 0%	Sat 0%	Ac 0%	NSat 0%	Sat 4,61%	Ac 0,71%	NSat 3,20%
	Ac	Ac 4,26%	Ac 0%	NSat 0,71%	Ac 1,06%	Ac 2,48%	NSat 0,35%	Ac 1,06%	Ac 0%	NSat 1,77%
	NSat	NSat 14,90%	NSat 1,42%	NSat 4,61%	NSat 9,57%	NSat 4,61%	NSat 21,28%	NSat 3,55%	NSat 2,48%	NSat 9,57%
NSat	Sat	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%
	Ac	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%
	NSat	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0,35%	NSat 0,71%	NSat 2,84%	NSat 1,77%	NSat 0%	NSat 0%	NSat 0%

Legenda: Sat = Satisfatório, Ac = Aceitável, NSat = Não Satisfatório

Tabela 19 – Qualidade global das amostras por grupo de alimentos

De acordo com a Tabela 19, verificou-se que:

- a amostra total obteve 6,74% (2,13% no Grupo I, 0% no Grupo II e 4,61% no Grupo III) de amostras satisfatórias, ou seja, amostras com os 3 parâmetros analisados satisfatórios;
- obteve 9,57% de amostras aceitáveis (4,26% no Grupo I, 3,54% no Grupo II e 1,77% no Grupo III);
- o total de amostras não satisfatórias foi de 83,69%.(21,99% no Grupo I, 41,13% no Grupo II e 20,57 no Grupo III).

A Tabela 20 mostra a distribuição percentual da amostra total e de cada grupo de preparações culinárias que obtiveram 1, 2 ou 3 parâmetros não satisfatórios.

		Total	GI	GII	GIII
Amostras satisfatórias	--	6,74%	2,13%	0%	4,61%
Amostras aceitáveis	--	9,58%	4,27%	3,54%	1,77%
Amostras c/ 1 parâmetro	Nsat	42,54%	17,02%	14,53%	10,99%
Amostras c/ 2 parâmetros	Nsat	39,01%	4,61%	24,83%	9,57%
Amostras c/ 3 parâmetros	Nsat	2,13%	0,36%	1,77%	0%

Tabela 20 – Ordenação das amostras em função do número de parâmetros microbiológicos não satisfatórios

De acordo com a tabela acima, verificámos que a amostra total obteve 42,54% das amostras com 1 parâmetro não satisfatório, destes 17,02% são da amostra de preparações culinárias do grupo I, 14,53% do grupo II e 10,99% do grupo III.

Quando analisadas as amostras para dois parâmetros não satisfatórios observámos uma ligeira diminuição na percentagem total (39,01%), com um aumento nas preparações culinárias do grupo II (24,83%) e uma diminuição nas do grupo I (4,61%). As preparações culinárias do grupo III quase mantiveram (9,57%).

Relativamente a amostras com três parâmetros não satisfatórios, observámos uma grande diminuição na percentagem total (2,13%), que ficou distribuída pelos grupos I (0,36%) e II (1,77%), pois o grupo III não obteve nenhuma amostra com 3 parâmetros não satisfatórios.

III.6- Análise da preparação culinária “carpaccio”

Dada a especificidade da preparação culinária “Carpaccio de salmão” realizámos recolhas de unidades amostrais em tempos de exposição diferentes (T_0 , T_1 , T_2 e T_3) das restantes preparações culinárias (T_0 , T_2 , T_4 , T_6 , T_8 e T_{10}). Deste modo, decidimos realizar a análise estatística dos resultados obtidos para esta preparação culinária à parte.

No total foram recolhidas 3 amostras da preparação culinária “carpaccio de salmão” nos diferentes tempos de exposição o que dá no total 12 unidades amostrais. Duas amostras foram recolhidas no mês de Julho e uma amostra no mês de Setembro.

Microrganismos	Mínimo (ufc/g)	Máximo (ufc/g)	Média (ufc/g)	Mediana (ufc/g)	Desvio Padrão (ufc/g)	CV ¹ (%)
Mesófilos	3,90x10 ⁴	3,00x10 ⁸	1,00x10 ⁸	7,55x10 ⁵	1,47x10 ⁸	68
Enterobacteriaceae	1,00x10 ³	2,80x10 ⁴	6,26x10 ³	2,90x10 ³	8,04x10 ³	78
Escherichia coli	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

¹ CV = (Desvio Padrão / Média) x 100%

Tabela 21 – Estatística descritiva dos resultados obtidos para a preparação culinária “carpaccio de salmão”

Pela análise da Tabela 21 constatamos que não obtivemos qualquer valor de contagem para o parâmetro *Escherichia coli*.

Relativamente à contagem de mesófilos, constatamos que os valores obtidos são elevados e variam entre 3,90x10⁴ ufc/g e 3,00x10⁸ ufc/g.

Para o parâmetro *Enterobacteriaceae* os valores de contagens obtidos variaram entre 1,00x10³ ufc/g e 2,8x10⁴ ufc/g.

Pelos valores da CV e do desvio padrão observamos que a dispersão dos resultados não é muito elevada.

Analisando as variáveis resposta categorizadas ao longo do tempo de exposição obtivemos os resultados expressos na Tabela 22. Não se analisou para a variável “contagem de *E. coli*” porque não temos contagens em todas as unidades amostrais.

Percentagem de unidades amostrais (%)				
Ao longo do tempo de exposição				
<i>Mesófilos</i>	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
Satisfatório	--	--	--	--
Aceitável	--	--	33,3	33,3
Não Satisfatório	100	100	66,7	66,7
<i>Enterobacteriaceae</i>	T ₀	T ₂	T ₄	T ₆
Satisfatório	--	--	--	--
Aceitável	--	--	--	--
Não Satisfatório	100	100	100	100

Tabela 22 - Associação entre a “contagem de mesófilos”, a “contagem de *Enterobacteriaceae*” e o “tempo de exposição” para a preparação culinária “carpaccio de salmão”

Para a “contagem de mesófilos”, de uma maneira geral verifica-se que a quantidade de unidades amostrais não satisfatórias no momento inicial é 100% (3 em 3) e não existe qualquer evolução estatisticamente significativa ($p = 0,121 > 0,05$ nos testes de Kendall’s tau-b e Kendall’s tau-c) ao longo do tempo de exposição.

Para a “contagem de enterobactérias” não se observa qualquer evolução ao longo do tempo de exposição, ou seja, em todos os tempos (T_0 , T_1 , T_2 e T_3) temos 100% (3 em 3) de unidades amostrais não satisfatórias.

IV - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Atendendo à primordial importância da proteção da saúde humana e segurança dos géneros alimentícios, a defesa dos interesses da comunidade constitui uma preocupação crescente. É necessário que os géneros alimentícios sejam seguros ao longo de toda a cadeia alimentar, desde a produção até ao consumo (Monteiro, 2002).

Assim, uma intervenção ao nível da cadeia alimentar deverá ser integral, atuando de forma interdependente em todas as suas partes, de forma a ser efetiva (Santos, 2004; Lopes, 2005).

É largamente reconhecido que medidas preventivas adequadas têm que ser postas em prática de modo a eliminar ou reduzir a contaminação microbiológica dos alimentos prontos a consumir nos estabelecimentos de “catering” (MeIngaile e Kärklina, 2013). Os resultados do nosso estudo não contrariam este fato.

No que respeita ao parâmetro mesófilos obtiveram-se resultados que variaram entre 0,00 ufc/g e $3,10 \times 10^{12}$ ufc/g para o Grupo I, entre $1,30 \times 10^3$ ufc/g e $6,7 \times 10^9$ ufc/g para o Grupo II e entre 0,00 ufc/g e $2,90 \times 10^{11}$ ufc/g para o Grupo III.

Para alimentos do Grupo I, num estudo realizado por Legnani, Leoni, Berveglieri, Mirolo & Alvaro (2004), em estabelecimentos de “restauração coletiva” na região de Ferrara (Itália), obtiveram valores de contagens de mesófilos entre $1,0 \times 10^2$ ufc/g e $2,76 \times 10^9$ ufc/g, portanto resultados similares aos do nosso estudo.

No mesmo estudo, para alimentos semelhantes aos do nosso Grupo II, obtiveram contagens de mesófilos entre 0,00 ufc/g e $4,17 \times 10^8$ ufc/g. Verifica-se neste caso uma diferença de apenas uma ordem de magnitude logarítmica em relação aos nossos resultados.

No caso de alimentos similares aos do nosso grupo III, no estudo de Legnani *et al.* (2004) obtiveram contagens de mesófilos entre $1,7 \times 10^4$ ufc/g e $7,24 \times 10^7$ ufc/g. De acordo com Zhuang, Barth & Hankinson (2003) o número de mesófilos presente em vegetais cortados varia entre $1,0 \times 10^4$ ufc/g e $1,0 \times 10^6$ ufc/g e para a fruta laminada entre $1,0 \times 10^2$ ufc/g e $1,0 \times 10^5$ ufc/g, de acordo com o produto, a época do ano e a região onde é cultivado. Ainda, num outro estudo efetuado em Joanesburgo, África do Sul, obtiveram valores na pesquisa de mesófilos de $1,0 \times 10^7$ ufc/g em saladas de vegetais e $1,0 \times 10^5$ ufc/g em saladas de fruta laminada (Christison, Lindsay & Von Holy, 2007). Assim, no presente estudo verificou-se uma diferença de mais de quatro ordens de

magnitude logarítmica em relação aos estudos acima mencionados para o Grupo III de alimentos.

Estas diferenças podem justificar-se pela má lavagem e desinfecção das frutas e legumes. Segundo Soriano, Rico, Moltó & Mañez (2000), a lavagem com hipoclorito de sódio (70 ppm) ou permanganato de potássio (25 ppm) poderia diminuir a quantidade de população microbiana em duas ordens de magnitude logarítmica. Podem igualmente justificar-se estes resultados pela baixa qualidade do ar dos locais de processamento e de exposição (Salustiano, Andrade, Brandão, Azevedo & Lima, 2003), o que no caso de eventos em tendas ou ar livre, como ocorreram no nosso estudo é perfeitamente expectável.

No caso do parâmetro *Enterobacteriaceae*, obtivemos no nosso estudo valores de contagens entre 0,00 ufc/g e $1,7 \times 10^8$ ufc/g para o Grupo I, entre 0,00 ufc/g e $3,10 \times 10^7$ ufc/g para o Grupo II e entre 0,00 ufc/g e $2,4 \times 10^{10}$ ufc/g para o Grupo III.

No estudo de Legnani *et al.* (2004) apenas têm resultados para “coliformes totais” e para alimentos do Grupo I, tendo obtido contagens entre 0,00 ufc/g e $7,59 \times 10^5$ ufc/g.

Relativamente ao critério *E. coli* e para o Grupo II, obtivemos contagens entre 0,00 ufc/g e $2,80 \times 10^2$ ufc/g, resultados com diferença de apenas uma ordem de magnitude logarítmica em relação aos obtidos no estudo de Legnani *et al.* (2004), que variaram entre 0,00 ufc/g e $2,00 \times 10^3$ ufc/g.

Ao analisarmos a **relação entre as variáveis resposta e a “temperatura ambiente” (Ta)**, podemos afirmar que não existe uma relação linear entre a temperatura ambiente e a contagem de mesófilos, tal como seria de esperar à partida. Para se perceber esta associação, provavelmente o plano de amostragem deveria ter incluído recolhas em meses com temperaturas ambientes mais baixas.

Ao tentar verificar a relação entre o mês de recolha e a variável resposta podemos, no entanto, concluir que a “contagem de mesófilos” nos pratos do grupo I é significativamente diferente nos meses de Setembro e Julho e nos meses de Outubro e Julho. É de salientar que os meses de Setembro e Outubro foram mais quentes que o mês de Julho e que a média de mesófilos na amostra é maior nestes meses, tal como seria de esperar. Ao comparar Setembro e Outubro concluímos que a contagem de mesófilos nas preparações culinárias do Grupo I não difere significativamente entre estes dois meses, o que coincide com o fato destes 2 meses terem tido temperaturas médias ambientes similares no ano civil em que foram realizadas as recolhas. No

mesmo grupo para as “contagens de enterobactérias” não conseguimos encontrar diferenças entre os meses.

No grupo II, para as “contagens de mesófilos”, “contagens de enterobactérias” e “contagens de *E. coli*” não conseguimos encontrar diferenças estatisticamente significativas entre os 3 meses.

No grupo III não temos recolhas de alimentos em Setembro, mas comparando Julho e Outubro, conseguimos encontrar diferenças significativas tanto para as “contagens de mesófilos” como para as “contagens de enterobactérias”.

Na avaliação do parâmetro mesófilos para cada subgrupo de alimentos, encontram-se diferenças significativas nos mesófilos detetados nos subgrupos. Esta diferença evidencia diferenças nas contaminações iniciais e diferentes padrões de desenvolvimento microbiano consoante a matriz alimentar.

De fato, a temperatura de confeção e a distribuição do calor no alimento (influenciada pela composição do mesmo) pode ser considerada um outro fator que influencia a contaminação dos alimentos (Mahmoudi, Norian, Pajohi Alamoti e Kiyani, 2014).

Assim, encontramos um primeiro conjunto constituído pelos subgrupos “Fruta laminada /PAC” e “Frios/GII” que não têm diferenças entre si; um segundo conjunto constituído por “Fruta Laminada/DLE”, “Frios/GI” e “saladas”; e, por fim, o subgrupo “quentes” encontra-se no meio destes dois conjuntos, mas não apresenta diferenças significativas em termos de contagens de mesófilos para o subgrupo “frios/GI”, tal como seria de esperar, visto pertenceram ao mesmo grupo de alimentos de acordo com os valores-guia do INSA.

Ao contrário do que seria de esperar os "quentes" não têm os valores de contagens mais baixos em média. Estes valores indicam a ocorrência de recontaminação após tratamento térmico ou temperatura de manutenção inferior a 60°C.

Na realidade os subgrupos com menores “contagens de mesófilos” em média no nosso estudo são "fruta laminada/DLE", "frios/GI" e "saladas".

Estes resultados são opostos aos encontrados num estudo de MeIngaille e Kārklina (2013) a alimentos prontos a consumir em estabelecimentos públicos de “catering” da Letónia, pois, num total de 3152 contagens de mesófilos, a média foi significativamente mais baixa para os alimentos sujeitos a processamento térmico (sopas quentes, pratos de peixe e pratos de carne) e consideravelmente mais alta para os alimentos refrigerados (entradas refrigeradas, pastelaria, saladas e produtos láteos).

É também interessante verificar que as contagens do subgrupo "fruta laminada/PAC" e do subgrupo "frios/GII" são similares e que há uma diferença significativa entre as contagens do subgrupo "fruta laminada/PAC" e do subgrupo "fruta laminada/DLE". Assim, somos levados a concluir que, apesar das más condições dos locais dos eventos, trazer a fruta lavada e desinfetada da cozinha central e descascá-la e laminá-la apenas no local do evento é mais vantajoso para a qualidade microbiológica do alimento do que adquiri-la já pronta a consumir (desinfetada, laminada e embalada em atmosfera modificada) a um fornecedor.

Ao fazer a mesma análise para o parâmetro *Enterobacteriaceae*, verifica-se que também há três grupos que se distinguem, sendo o grupo constituído pelos subgrupos "Frios/GI" e "Quentes" o que apresenta menor valor de "contagens de enterobactérias" e estatisticamente não apresentam diferenças significativas entre eles.

Quanto ao segundo grupo formado pelos subgrupos "Frios/GII", "Fruta laminada/DLE" e "Fruta laminada/PAC", que apresentam valores intermédios de "contagens de enterobactérias" e entre estes subgrupos não há diferenças significativas.

Finalmente o subgrupo "saladas" é o que apresenta contagens de enterobactérias mais elevadas apresentando diferenças significativas para todos os outros grupos, o que está de acordo com o esperado se o processo de lavagem e desinfecção não for eficaz.

Uma vez que os vegetais são produtos crus de origem agrícola é expectável que contenham microrganismos, incluindo patogénicos. Na realidade a contaminação dos vegetais reflete a microflora do ambiente em que estes são cultivados (Tauxe *et al.*, 1997).

Analisando as variáveis resposta categorizadas ao longo do tempo de exposição, de um modo geral, encontrámos uma elevada percentagem de unidades amostrais não satisfatórias para as contagens de mesófilos (77,7%, 219 em 282) e para as contagens de *Enterobacteriaceae* (43,6%, 123 em 282).

Para o parâmetro contagem de *E. coli* é que encontrámos uma elevada percentagem (94,3%, 266 em 282) de unidades amostrais satisfatórias. Estes resultados denotam um número significativamente mais elevado de amostras não satisfatórias do que aqueles referidos em estudos similares.

No estudo realizado por Legnani *et al.* (2004), no grupo de alimentos comparáveis com os nossos grupos I e II, para a "contagem de mesófilos", foram analisadas 220 amostras

e somente 5% das amostras obtiveram resultado inaceitável. Em vez das *Enterobacteriaceae*, neste estudo foram analisados os coliformes e 6,6% das 220 amostras estavam inaceitáveis para este parâmetro. Também neste tipo de alimentos e no mesmo estudo, 5,4% das amostras obtiveram resultado não satisfatório para a “contagem de *E. coli*”.

Como a percentagem de unidades amostrais não satisfatórias é muito elevada em quase todos os grupos para a “contagem de mesófilos” e para a “contagem de enterobactérias” no início do empratamento (T_0), somos levados a afirmar que as Boas Práticas de Higiene e Fabrico não estão a ser totalmente cumpridas na cozinha central. Contudo, como o aumento do número de bactérias de todos os parâmetros analisados não é significativa ou se dá a uma “velocidade” reduzida, somos levados a concluir que se a preparação culinária apresentasse uma qualidade microbiana boa no T_0 , provavelmente este tipo de produtos poderiam ser expostos durante 6 horas a temperatura não controlada, ou seja, no T_6 ainda apresentar valores de contaminação dentro do critério de satisfatório ou aceitável.

Contudo, como a percentagem de unidades amostrais satisfatórias para o parâmetro *E. coli* é muito elevada, significa que o processamento térmico está a ser eficaz na cozinha central. De facto, só temos valores de contagens no “*parfait* de manga”, preparação culinária proveniente de fornecedor externo à cozinha central e nas preparações culinárias do grupo II - “canapé de patê de aves com *coulli* de framboesa”, “canapé de queijo *chèvre* com pistácio” e “sapateira recheada” – e que, portanto, não são submetidas a qualquer processamento térmico na cozinha central. Terão que ser reforçadas as boas práticas de higiene e fabrico de modo a evitar as contaminações cruzadas e fazer uma avaliação dos fornecedores, pois estas contaminações podem ser provenientes das matérias-primas utilizadas.

Como já foi referido, para a “contagem de mesófilos” verificou-se que a quantidade de amostras não satisfatórias no momento inicial (T_0) é muito elevada em todos os grupos de alimentos, sendo no grupo I de 61,9%, no grupo II de 91,2% e no grupo III de 50%. No grupo I a degradação que se verifica ao longo do tempo de exposição é estatisticamente significativa, mas nos restantes grupos de alimentos não.

Para as “contagens de *Enterobacteriaceae*” a percentagem de amostras não satisfatórias no T_0 é igualmente elevada para os grupos II e III, sendo de 47,1% e 57,1% respetivamente, e não se observam degradações estatisticamente significativas com o aumento do tempo de exposição a temperatura não controlada.

Num estudo realizado por Nasopoulou, Poullos, Magli, Gdontelis, Papanotas e Zabetakis (2012), em hotéis e unidades de “catering” da Grécia, chegaram a resultados similares nalguns aspetos, embora tenham usado alimentos expostos a uma temperatura controlada. Assim, para os “pratos quentes”, alimentos do grupo I, concluíram que ao fim de 4 horas de exposição a temperatura controlada (superior a 60°C) não se verificou um aumento estatisticamente significativo das contagens dos mesófilos e de *Enterobacteriaceae*, mas para os “pratos frios”, alimentos dos grupos II e III, já o aumento verificado ao fim de 4 h de exposição a temperatura controlada (inferior a 5°C) para os dois parâmetros foi significativo.

No caso da preparação culinária “carpaccio” de salmão, adquirida em “outsourcing”, o produto vinha já fatiado e congelado e apenas tinha que ser empratado e temperado momentos antes do consumo, dada a rapidez de descongelação do mesmo.

Um elevado número de unidades amostrais não satisfatórias no T_0 (empratamento), para os parâmetros mesófilos e *Enterobacteriaceae*, evidencia uma qualidade higio-sanitária inicial baixa, o que de certo modo era expectável na medida em que se trata de salmão cru não sujeito a qualquer tratamento térmico, e o aumento da temperatura interior do produto que ocorre no transporte (desde a cozinha central até ao local do evento) é suficiente para ocorrer desenvolvimento microbiano.

Contudo não temos qualquer contagem de *E. coli*, pelo que se a contagem inicial fosse reduzida, a percentagem de unidades amostrais satisfatórias no fim da exposição poderia ser muito maior, o que parece indicar que os problemas com este produto não parecem indicar um alimento potencialmente perigoso do ponto de vista da contaminação mas sim problemas com a qualidade geral, de armazenamento.

A continuar a usar um produto pronto a consumir, recomenda-se a avaliação e a aprovação do fornecedor, que, muito provavelmente, terá que implementar BPH de forma a evitar que a carga microbiana final seja tão elevada, bem como, avaliar as condições de armazenamento e de transporte no frio.

Um método para reduzir a carga microbiana da matéria-prima, visto que a congelação não elimina a flora microbiana contaminante, poderá também ser uma ferramenta adicional para melhorar a qualidade microbiológica deste tipo de preparações.

Segundo Gómez-Estaca, López-Caballero, Gómez-Guillén, López de Lacey e Montero Garcia (2009) a “alta pressão” pode ser uma ferramenta adequada para obter uma qualidade elevada em produtos tipo “carpaccio” de pescado, pois, por um lado, o

produto fica livre de parasitas e com uma melhor qualidade microbiológica e, portanto, com um prazo de validade maior, e, por outro lado, os produtos adquirem novas características sensoriais que podem ser muito apreciadas pelos consumidores.

V- CONCLUSÕES

Não existem muito trabalhos desta natureza, pelo que achamos que as conclusões retiradas serão bastante válidas para ajudar na implementação de Sistemas de Gestão da Segurança Alimentar na restauração de eventos e dar o mote a estudos futuros.

No nosso estudo não obtivemos uma relação linear entre a “temperatura ambiente” (T_a) e as contagens de mesófilos e de enterobactérias, tal como seria de esperar à partida, embora haja diferenças significativas entre as contagens obtidas no mês de Julho e as contagens obtidas nos meses de Setembro e Outubro, que tiveram temperatura média ambiente mais elevada no ano civil em que ocorreu a recolha das amostras.

Encontraram-se ainda diferenças significativas na quantidade de mesófilos detetados nos subgrupos de alimentos do estudo e, ao contrário do que seria de esperar, os “quentes” não têm os valores de contagens mais baixos em média, sendo os subgrupos com menores “contagens de mesófilos” em média a “fruta laminada/DLE”, “frios/GI” e as “saladas”. É também interessante verificar que as contagens do subgrupo “fruta laminada/PAC” e do subgrupo “frios/GII” foram similares e que há uma diferença significativa entre as contagens do subgrupo “fruta laminada/PAC” e do subgrupo “fruta laminada/DLE”.

De um modo geral, encontrámos uma elevada percentagem de unidades amostrais não satisfatórias para as contagens de mesófilos (77,7%, 219 em 282) e para as contagens de *Enterobacteriaceae* (43,6%, 123 em 282). Para o parâmetro contagem de *E. coli* é que encontrámos uma elevada percentagem (94,3%, 266 em 282) de unidades amostrais satisfatórias.

Relativamente à evolução da qualidade microbiológica ao longo do tempo de exposição, obtivemos uma percentagem de unidades amostrais não satisfatórias muito elevada em quase todos os grupos para a “contagem de mesófilos” e para a “contagem de enterobactérias” no início do empratamento (T_0), mas a percentagem de unidades amostrais satisfatórias para o parâmetro *E. coli* é muito elevada no início (95% no Grupo I, 85,3% no Grupo II e 100% no Grupo III) e ao longo do tempo de exposição. De uma maneira geral não se observaram degradações estatisticamente significativas ao longo do tempo de exposição, contudo, podemos concluir que o que afeta mais a qualidade microbiológica das preparações culinárias na restauração de eventos é a sua qualidade inicial. Concluimos também que o tempo de exposição a temperatura não controlada afetou mais as preparações culinárias do grupo I, pois, para as contagens de mesófilos, existiu uma degradação (único aumento significativo das unidades amostrais

não satisfatórias com o aumento do tempo de exposição), pelo que não conseguimos estabelecer e validar um tempo máximo de exposição a temperatura não controlada dos alimentos na restauração de eventos, que era o objetivo principal inicial. Seria necessário realizar mais estudos de modo a conseguir concretizar este objetivo.

Contudo, podemos concluir que os fatores de riscos que levam à contaminação dos alimentos na restauração de eventos são a contaminação cruzada devido a más práticas de higiene e o crescimento microbiano devido a condições inadequadas de arrefecimento e armazenamentos dos produtos.

De fato, os resultados obtidos para as contagens microbiológicas neste estudo indicam a necessidade de analisar o Sistema de Segurança Alimentar implementado na cozinha central da empresa de “catering” de modo a detetar as suas falhas. Algumas medidas deverão passar por reforçar o cumprimento das Boas Práticas de Higiene Fabrico, revalidar os parâmetros dos processos de confeção e no caso de algumas matérias-primas reavaliar os fornecedores, realizando um controlo microbiológico da qualidade das mesmas.

Deste modo, seria interessante realizar um estudo onde se relacionasse o nível de contaminação inicial (no T0) com o nível de cumprimento das Boas Práticas de Higiene e Fabrico na Cozinha Central através da realização de zaragatoas às superfícies (tábuas de corte, bancadas, panos de limpeza, etc.) e aos manipuladores.

Numa avaliação geral das contagens obtidas para os diferentes parâmetros analisados, a quase totalidade das amostras (83,68%) pode ser considerada não satisfatória, mas não temos contagens de *E. coli* nos Grupos I e III e, no Grupo II, a percentagem máxima de unidades amostrais não satisfatórias é de 17,6% para este parâmetro. Contudo, como não analisámos a presença de patogénicos (como *S. aureus*, *Salmonella* spp, *Bacillus cereus*) é-nos difícil avaliar a segurança alimentar das preparações culinárias do nosso estudo.

Contudo, podemos afirmar que existem preparações culinárias potencialmente de risco, como o “carpaccio” de salmão, adquiridas em regime de “outsourcing”, cuja utilização na restauração de eventos pode colocar problemas de saúde pública, sobretudo para os grupos mais vulneráveis (idosos, crianças e imunocomprometidos) quando as BPHF falham no produtor.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2008). *Food microbiology*. Cambridge, UK: RSC Publishing.
- Albuquerque, M. L. e Godinho, C. (2001). “Turismo-diagnóstico prospectivo”. Gabinete de Estudos e Prospectivas Económicas do Ministério da Economia. Edição Lisboa, Fevereiro 2001.
- Azevedo, D. (2008). “Sistema Cook-chill: produção de refeições em sistema diferido”. *Segurança e Qualidade Alimentar*, nº4 (Maio), 36-37.
- Baldwin, D. E. (2012). “Sous-vide cooking: a review”. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 1 (2012): 15-30. Doi: 10.1016/j.ijgfs.2011.11.002.
- Baldwin, D. (2014). “Sous-vide cooking”. [Consultado em 20-07-2014]. Disponível em <http://www.douglasbaldwin.com/sous-vide.html>
- Baptista, P. & Linhares, M. (2005). *Higiene e Segurança Alimentar na Restauração: volume I – Iniciação*. Guimarães: Forvisão.
- Baptista & Antunes, (2005).
- Bernardo, F. (2006). “Perigos sanitários nos alimentos”. *Segurança e Qualidade Alimentar*, nº1 (Novembro), 6-8.
- Bolton, D. e Maunsell, B. (2004). “Guidelines for food safety control in European restaurants”. Dublin: Tegeasc – The National Food Centre.
- Brandão, C. (2007). *Factores de Risco em Catering de eventos*. *Segurança e Qualidade Alimentar*, nº2 (Maio), 37.
- Brown, T., Evans, J. A., James, C., James, S. J., Swain, M. V. (2006). “Thawing of cook-freeze catering packs”. *Journal of Food Engineering*, Vol. 74, Issue 1, May 2006, pp 70-77.
- CAC – *Codex Alimentarius Commission* (1993). “Code of hygienic practice for precooked and cooked foods in mass catering”. CAC/RCP 39.
- CAC – *Codex Alimentarius Commission* (1999). “Code of hygiene practice for refrigerated packaged foods with extended shelf life”. CAC/RCP 46.
- CAC - *Codex Alimentarius Commission* (2003). “Recommended International Code of Practice: General Principles of Food Hygiene”. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4
- Cardoso, C. (2003). *Oportunidades e Investimentos em Turismo*. Organizadora Maria Manuela Gimenes, Editora Roca, Lda., Brasil, Capítulo 13: 147-156.
- Castanheira, F. (2009). “Cook-chill”. Monografia orientada pela Dra. Clara Matos. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação. Universidade do Porto.

- CDC - Centers for Disease Control and Prevention (2011). "CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States". [Consultado em 13-11-2014]. Disponível em <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>.
- CDC (2014). "FoodNet's Progress Reports: 2013 progress report on six key pathogens compared to 2006-2008". [Consultado em 13-11-2014]. Disponível em <http://www.cdc.gov/foodnet/data/trends-2013-progress.html>.
- Christison, C., Lindsay, D. & Von Holy, A. (2007). *Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens, Johannesburg, South Africa*. Food Control, 19, pp 727-733.
- Coleman, P. (2003) "The microbiological risk assessment of food". Risk Analysis, q23 (6), 1351.
- Correia, C., Campos, I., Coelho, A., Maia, C., Pena, C., Bonito, C., Sousa, I., Toscano, M., Furtado, R., Santos, S., Viegas, S., Lopes, T., Saraiva, M. & Calhau, M.A. (2013). Investigação Laboratorial de Toxinfecções Alimentares. *Observações, Boletim Epidemiológico*, 2(6), 3-5.
- Creed, P. G. (2001). "The potential of foodservice systems for satisfying consumer needs". Innovative Food Science & Emerging Technologies (2001), 2: 219-227
- Department of Health of England (1989). "Chilled and frozen. Guidelines on cook-chill and cook-freeze catering systems". London: HMSO.
- Dicionário Universal de Língua Portuguesa (2000), 6ª Edição, Texto Editora, p. 197.
- EFSA (2007). *Report on food-borne outbreak reporting systems in place in the Member States of the European Union and on needs for information on food-borne outbreaks in the European Community – results of a questionnaire survey*. The EFSA Journal, 577: 1-37.
- Encyclopedia of Tourism (2000). Chief editor Jafar Jafari. First published by Routledge. London and New York. ISBN 0-415-15405-7, p. 74
- FDA – Food and Drug Administration (2013). *Food Code*. [Consultado em 10-10-2014]. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/UCM374510.pdf>.
- Fennema, O. R., Powrie, W. D. e Marth, E. H. (1973). Low temperature preservation of foods and living matter (vol. 76). Nova Iorque: Marcel Dekker.

- FERCO – European Federation of Contract Catering Organizations (2014). “European Industry Overview”. [Consultado em 30.10.2014]. Disponível em <http://www.foodserviceeurope.org/en/european-industry-overview>.
- Forsythe, S. J. (2002). “Microbiologia da Segurança Alimentar”. Trad. Maria Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Artmed Editora, SA, Porto Alegre (Brasil), Cap. 2: 21-55; Cap. 3: 65-99.
- Forsythe, S. J. (2010) *The Microbiology of Safe Food*. Nova Iorque, EUA: Wiley-Blackwell.
- FSAI (2006a). “Guidance Note N.º 15: Cook-chill systems in the food service sector (revision 1)”. Food Safety Authority of Ireland, Dublin. ISBN 1-904465-19-6
- FSAI (2006b). “Guidance Note N.º 20: Industrial Processing of Heat-Chill Foods”. Food Safety Authority of Ireland, Dublin. ISBN 1-904465-39-0
- Gaze, R., Betts, R., Stringer, M. (2002). “HACCP systems and microbiological risk assessment”. In Brown, M. e Stringer, M. (Eds.), *Microbiological Risk Assessment in Food Processing*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Geiges, O. (1996). “Microbial processes in frozen food”. *Advance Space Research*, vol. 18, nº 12, pp 109-118.
- Gómez-Estaca, J., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., López de Lacey, A. e Montero García, P. (2009). “High pressure technology as a tool to obtain high quality carpaccio and carpaccio-like products from fish”. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 148-154. doi: 10.1016/j.ifset.2008.10.006.
- Gould, G. W. (1996). “Methods for preservation and extension of shelf life”. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 33: pp 51-64.
- Greathouse, K. R. e Gregoire, M.B. (1988). “Variables related to selection of conventional, cook-chill and cook-freeze systems”. *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 88, nº 4, pp 476-478
- Hansen, B. (1995). “Off-premise Catering Management”. John Wiley & Sons, Inc., New York (USA). ISBN 0-471-04528-4. Cap. 1: 1-17; Cap. 3: 34-52.
- Henriques, A. R. B. C. S. (2008). “Avaliação da vida útil de refeições “cook-chill” e “cook-freeze”: indicadores microbiológicos, físico-químicos e sensoriais”. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.

- Holdsworth, S. D. (2004) “Optimizing the safety and quality of thermally processed packaged foods”. Improving the thermal processing of foods (1st Edition). Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England, 2004, pp 3-31.
- ISO 22000 :2005. “Food Safety Management Systems – Requirements for any organization in the food chain”. *International Organization for Standardization*, Geneve, Suíça
- ISO 7218: 2007. “Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – General Requirements and Guidance for Microbiological Examinations”. *International Organization for Standardization*, Geneve, Suíça
- Jay, J.M., Loessner, M.J. e Golden, D.A. (2005). *Modern Food Microbiology*, Springer, Nova Iorque, EUA.
- Johnsen, J., Bieger, T., Muller, H. e Elsasser, H. (2004). “Sustainability of Mega Events: Challenges, Requirements and Results. The Case-Study of the World Ski Championship St. Moritz 2003”. *Tourism Review*, vol. 59, nº 4, 27-36.
- Jones, B.A., Grace, D., Kock, R., Alonso, S., Rushton, J., Said, M., McKeever, D., Mutua, F., Young, J., McDermott, J. & Pfeiffer, D. (2013). Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. *Proceedings of the National Academy Sciences*, 110 (21), 8399-8404.
- Legnani, P., Leoni, E., Berveglieri, M., Mirolo, G. & Alvaro, N. (2004). “Hygienic control of mass catering establishments. Microbiological monitoring of food and equipment”. *Food Control*, 15, 205-211. Doi: 10.1016/S0956-7135(03)00048-3.
- Mahmoudi, R., Norian, R., Pajohi Alamoti, M. R. e Kiyani, R. (2014). Hygienic quality of food stuff in catering services and restaurants in Iran. *Int. Food Research Journal*, 21 (2): 673-676. Disponível em <http://www.ifrj.upm.edu.my>.
- Maia, C. (2008). “Critérios Microbiológicos”. Comunicação apresentada no congresso de Análises Clínicas e Saúde Pública. APTAC, março de 2008, Lisboa.
- Matias, J. C. O., Fonseca, J. M. J., Barata, I. G. e Brojo, F. M. R. P. (2013). HACCP and OHS: Can each one help improve the other in the catering sector? *Food Control*, 30, 240-250.
- MeIngaille, A. e Kārklina, D. (2013). “Microbiological risk analysis in catering establishments”. *Proc. Latvian Acad, Science, section B*, vol. 67, nº 4/5, pp340-349. Doi: 10.2478/prolas-2013-0078.
- Mossel, D. A. A. & Garcia, M. (1985). “Fundamentos Ecológicos para Garantizar y Comprobar la Inocuidade y la Calidad de los Alimentos”. In: *Microbiología de los*

- alimentos. Primera Edition espanola. Editorial Acribia, SA, Zaragoza /Espanha),
Cap. 2: 4-28; Capítulo 3: 54-92
- Naturlink (2014). “Sistemas de Segurança Alimentar: Introdução à norma ISO 22000”.
[Consultado em 1-10-2014]. Disponível em <http://naturlink.sapo.pt/Natureza-e-Ambiente/Interessante/content/Sistemas-de-Gestao-da-Seguranca-Alimentar--Introducao-a-Norma-ISO-22000?bl=1>
- Nasopoulou, C. Poullos, P. Magli, M., Gdontelis, N., Papanotas, C. e Zabetakis, I. (2012). “Verification of Hazard Analysis and Critical Control Point in Hotels and Catering Units: Evaluation of the Cleaning and Disinfection Procedures and Microbiological Monitoring of Hot and Cold Meals”. Food and Nutrition Sciences, 3, 606-613. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.35083>.
- Novais, M. R. (2004). “Toxinfecções alimentares em Portugal”. Comunicação oral na I Conferência de Segurança Alimentar em Restauração (Catering & Food Safety I). Suporte Digital. Grande auditório da ESHTe, 28 e 29 de Outubro de 2004. Estoril (Portugal).
- Novais, M. R. (2006). Noções gerais de Higiene e Segurança Alimentar – Boas Práticas e Pré-Requisitos HACCP. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 1 (Novembro 2007), 10-11.
- NP 4405: 2002. Regras gerais para a contagem de microrganismos: contagem de colónias a 30°C. IPQ.
- NP 4137: 1991. Regras gerais para a determinação de *Enterobacteriaceae* sem revitalização. IPQ.
- NP 4396: 2002. Regras gerais para a contagem de E. coli: método corrente. IPQ.
- NSAI – National Standards Authority of Ireland (1994). “Hygiene in the catering sector”. I.S. 340.
- OMT – Organização Mundial de Turismo (2003). “Manual de qualidade, higiene e inocuidade dos alimentos no setor do Turismo”. Editora Roca, Lda., Brasil. ISBN: 85-7241-432-0. Cap. 1: 1-3; Cap. 4: 15-18; Cap. 12: 101-109.
- OSHA - European Agency for Safety and Health at Work (2008). “Facts 79”. Bilbao. Disponível em <https://www.osha.europa.eu/pt>
- Oxford Advanced Learner’s Dictionary (2000). Sixth Edition, Edited by Sally Wehmeier. Oxford University Press, p. 184.
- Proença, R. P. C. (1997). “Inovação Tecnológica na Produção de Alimentação Coletiva”. Florianópolis: Insular, p. 136

- Regulamento CE nº 852/2004 de 29 de Abril, relativo à higiene dos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia L139/1, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Regulamento CE nº 1441 de 2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007, que altera o Regulamento CE nº 2073/2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia L322/12, Comissão Europeia, Bruxelas.
- Rybka-Rodgers, S. (2001). "Improvement of food safety design of cook-chill foods". *Food Research International* (2001), 34: 449-455.
- Rodgers, S. (2004). "Novel approaches in controlling safety of cook-chill meals". *Trends in food Science and Technology* (2004), 15: 366-372
- Rosset, P., Cornu, M., Noël, V., Morelli, E. e Poumeyrol, G. (2004). Time-temperature profiles of chilled ready-to-eat foods in school catering and probabilistic analysis of *Listeria monocytogenes* growth. *International Journal of Food Microbiology* 96, pp 49-59. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.008
- Salustiano, V., Andrade, N., Brandão, S., Azevedo, R. & Lima, S. (2003). "Microbiological Air Quality of Processing Areas in a Dairy Plant as Evaluated by the Sedimentation Technique and a One-stage Air Sampler". *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, pp 255-259.
- Santos, M.I., Correia, C., Cunha, M.I.C., Saraiva, M.M., Novais, M.R. (2005). Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66-68
- Schlundt, J. (2002). *New Directions in Foodborne Disease Prevention*. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 3-17
- Soriano, J., Rico, H., Moltó, J. & Mañez, J. (2000). *Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants*. *International Journal of Food Microbiology*, 58, pp 123-128.
- Sprenger, R. A. (2002). "Hygiene for management – focus on food safety". Highfield Publications, Donfield, UK, 9th Edition, 2002: pp 132-145.
- Taoukis, P.S. and Labuza, T.P. (1989), Applicability of Time-Temperature Indicators as Shelf Life Monitors of Food Products. *Journal of Food Science*, 54: 783–788. doi: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb07882.x

- Tauxe, R., Kruse, H., Hedberg, C., Potter, M., Madden, J. e Wachsmuth, K. (1997). "Microbiological hazards and emerging issues associated with produce: a preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods". *Journal of Food Protection*, 60 (11), pp 1400-08.
- Valvassori, S. (2014). "Novas tecnologias na produção de alimentos". [Consultado em 20-07-2014]. Disponível em: <http://www.simonevalvassori.com.br/noticias/noticias/61-novas-tecnologias-na-producao-de-alimentos>
- Veiga, A., Lopes, A., Carrilho, E., Silva, L., Dias, M.B., Seabra, M.J., Borges, M., Fernandes, P., Nunes, S. (2009). *Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal*, Direção de Avaliação e Comunicação dos Riscos, Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. [Consultado em 10.04.2014]. Disponível em <http://www.asae.pt/aaaDefault.aspx?f=3&back=1&id=7994>
- Viegas, S., Campos, I., Correia, C., Coelho, A., Maia, C., Pena, C., Bonito, C., Sousa, I., Toscano, M., Furtado, R., Santos, S., Lopes, T. & Saraiva, M. (2014). Investigação Laboratorial de Toxinfecções Alimentares, 2013, *Observações, Boletim Epidemiológico*, 3(7), 3-5.
- Villa de Brito, J. C. P. F. (2006). "Segurança Alimentar na Restauração de Eventos: Fatores Críticos". Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Wesley, I. V. (2009). Public Health Impact of Foodborne Illness: Impetus for the International Food safety Effort. In Heredia, N., Wesley, I., Garcia, S. (Eds.), *Microbiologically Safe Foods* (pp. 1-13). Hoboken, EUA: John Wiley and Sons, Inc.
- WHO (2014a). "Food Safety". [Consultado em 27-11-2014]. Disponível em http://www.who.int/topics/food_safety/en/
- WHO (2014b). "Foodborne Diseases". [Consultado em 27-11-2014]. Disponível em http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/en/
- WHO (2014c). "10 facts on food safety". [Consultado em 27-11-2014]. Disponível em http://www.who.int/features/factfiles/food_safety/en/#
- Worsfold, D. (2001). "A Guide to HACCP and Function Catering". *The Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, December, vol. 121, nº4, 224-229.
- Zhuang, H., Barth, M. & Hankinson, T. (2003). Microbiology safety, quality and sensory aspects of fresh-cut fruits and vegetables. In J. Novak, G. Sapers & V.

Juneja (Eds.). Microbial Safety of minimal processed foods, pp 255-278. Boca Raton, Flórida: CRC Press.

ANEXO I - CHECKLIST DE CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA**Prato:** _____**Local:** _____ **Data:** _____**Histórico/Características do Produto**

Ingredientes Críticos: _____

Manipulação: _____

Características Organoléticas do Produto: _____

Proteção do Produto: _____

Etiquetagem: _____

Proteção Individual dos Colaboradores: _____

Instalações: _____

	Chegada ao evento	Início do Empratamento	Após 2h	Após 4h	Após 6h	Saída
Hora						
Temperatura do alimento						
Temperatura ambiente						

ANEXO II - Resultados obtidos nas análises microbiológicas (base de dados)

Grupo	Código	Análise	Mês	Tempo	Ta	Tp	Contagem Mesófilos	Cont. Enterobactérias	Cont. Ecoli
1	1,0	1	7	1	24,1	66,0	4.100,0	0,0	0,0
1	1,0	1	7	2	24,4	68,3	6.500,0	0,0	0,0
1	1,0	1	7	3	24,2	67,8	160.000,0	10,0	0,0
1	1,0	1	7	4	26,2	83,5	12.000,0	10,0	0,0
1	1,0	2	10	1	27,1	75,0	51.000,0	0,0	0,0
1	1,0	2	10	2	29,4	65,4	4.700,0	0,0	0,0
1	1,0	2	10	3	29,0	62,3	4.800.000,0	0,0	0,0
1	1,0	2	10	4	27,8	53,9	25.000,0	0,0	0,0
1	2,0	1	7	1	23,3	75,0	1.800,0	0,0	0,0
1	2,0	1	7	2	17,5	73,5	830,0	0,0	0,0
1	2,0	1	7	3	17,3	65,0	3.100,0	0,0	0,0
1	2,0	1	7	4	16,0	60,0	180.000,0	0,0	0,0
1	2,0	3	10	1	29,0	95,7	1.000.000,0	30,0	0,0
1	2,0	3	10	2	26,8	26,4	3.000.000,0	10,0	0,0
1	2,0	3	10	3	27,3	25,8	300.000,0	10,0	0,0
1	2,0	3	10	4	25,4	24,8	2.900.000.000,0	20,0	0,0
1	3,0	1	9	1	24,8	75,0	30.000.000,0	970.000,0	0,0
1	3,0	1	9	2	27,3	27,3	30.000.000,0	1.700.000,0	0,0
1	3,0	1	9	3	26,8	24,8	30.000.000,0	0,0	0,0
1	3,0	1	9	4	26,2	25,4	30.000.000,0	37.000,0	0,0
1	3,0	3	9	1	23,5	75,0	8.300,0	0,0	0,0
1	3,0	3	9	2	30,0	27,2	11.000,0	0,0	0,0
1	3,0	3	9	3	30,4	26,2	0,0	0,0	0,0
1	3,0	3	9	4	30,4	26,9	9.300.000,0	0,0	0,0
1	3,0	4	10	1	28,0	75,0	1.100,0	0,0	0,0
1	3,0	4	10	2	30,2	44,1	8.100,0	0,0	0,0
1	3,0	4	10	3	29,1	32,2	58.000,0	0,0	0,0
1	3,0	4	10	4	26,1	28,6	61.000,0	0,0	0,0
1	4,0	1	9	1	30,0	76,0	340,0	0,0	0,0
1	4,0	1	9	2	27,0	75,0	3.600.000,0	0,0	0,0
1	4,0	1	9	3	30,0	75,0	69.000.000,0	0,0	0,0
1	4,0	1	9	4	23,8	75,0	18.000.000,0	0,0	0,0
1	6,0	2	10	1	26,7	75,0	10,0	0,0	0,0
1	6,0	2	10	2	27,4	35,4	840.000.000.000,0	0,0	0,0
1	6,0	2	10	3	28,2	26,2	1.100.000.000.000,0	170.000.000,0	0,0
1	6,0	2	10	4	29,3	27,2	3.100.000.000.000,0	0,0	0,0
1	6,0	3	10	1	27,1	75,0	1.500.000.000,0	2.400.000,0	0,0
1	6,0	3	10	2	29,4	23,8	22.000.000,0	36.000,0	0,0
1	6,0	3	10	3	29,0	27,9	130.000.000,0	600.000,0	0,0
1	6,0	3	10	4	27,8	26,3	1.600.000.000,0	20.000.000,0	0,0
1	9,0	1	7	1	25,0	62,0	47.000.000,0	0,0	0,0
1	9,0	1	7	2	24,4	24,4	57.000.000,0	0,0	0,0
1	9,0	1	7	3	26,2	24,0	45.000.000,0	0,0	0,0
1	9,0	1	7	4	24,7	23,2	400.000,0	0,0	0,0
1	9,0	2	9	1	24,8	21,5	12.000.000,0	0,0	0,0
1	9,0	2	9	2	27,3	25,7	6.100.000,0	0,0	0,0
1	9,0	2	9	3	26,8	25,9	18.000.000,0	0,0	0,0
1	9,0	2	9	4	26,2	25,6	1.400.000,0	0,0	0,0
1	9,0	3	9	1	24,8	21,5	12.000.000,0	0,0	0,0

1	9,0	3	9	2	27,3	25,7	4.100.000,0	0,0	0,0
1	9,0	3	9	3	26,8	25,9	6.800.000,0	0,0	0,0
1	9,0	3	9	4	26,2	25,6	30.000,0	0,0	0,0
1	5,0	1	7	1	23,3	18,3	420,0	0,0	0,0
1	5,0	1	7	2	23,5	21,6	3.100,0	0,0	0,0
1	5,0	1	7	3	24,7	22,8	34.000.000,0	0,0	0,0
1	5,0	1	7	4	26,1	24,2	5.000.000,0	0,0	0,0
1	5,0	2	7	1	24,8	8,0	40,0	0,0	0,0
1	5,0	2	7	2	26,4	22,3	73,0	0,0	0,0
1	5,0	2	7	3	24,9	22,8	89,0	0,0	0,0
1	5,0	2	7	4	24,8	22,8	38,0	0,0	0,0
1	5,0	3	7	1	26,0	15,3	32.000,0	20,0	0,0
1	5,0	3	7	2	28,1	24,5	44.000,0	10,0	0,0
1	5,0	3	7	3	25,1	26,9	27.000,0	30,0	0,0
1	5,0	3	7	4	27,9	26,7	49.000,0	0,0	0,0
1	7,0	1	7	1	23,3	0,8	13.000,0	580,0	30,0
1	7,0	1	7	2	23,5	14,4	9.800,0	750,0	0,0
1	7,0	1	7	3	24,7	20,2	21.000,0	550,0	0,0
1	7,0	1	7	4	26,1	22,7	9.400,0	500,0	0,0
1	7,0	2	7	1	26,0	13,7	11.000,0	11.000,0	0,0
1	7,0	2	7	2	28,1	22,6	14.000,0	14.000,0	0,0
1	7,0	2	7	3	27,1	25,1	18.000,0	18.000,0	0,0
1	7,0	2	7	4	29,9	25,4	320.000,0	320.000,0	0,0
1	8,0	1	7	1	26,0	7,2	30.000.000,0	0,0	0,0
1	8,0	1	7	2	28,1	24,4	970.000,0	0,0	0,0
1	8,0	1	7	3	27,1	26,5	46.000.000,0	0,0	0,0
1	8,0	1	7	4	29,9	26,7	4.700.000,0	0,0	0,0
1	8,0	2	9	1	28,6	20,6	300.000.000,0	0,0	0,0
1	8,0	2	9	2	28,0	25,5	300.000.000,0	0,0	0,0
1	8,0	2	9	3	26,4	25,4	300.000.000,0	0,0	0,0
1	8,0	2	9	4	27,2	25,8	300.000.000,0	0,0	0,0
2	10,0	1	7	1	28,6	28,6	390.000.000,0	96.000,0	0,0
2	10,0	1	7	2	28,5	19,8	7.400.000,0	91.000,0	0,0
2	10,0	1	7	3	26,8	20,1	800.000,0	260.000,0	0,0
2	10,0	1	7	4	24,0	21,5	300.000.000,0	320.000,0	0,0
2	10,0	2	9	1	29,2	17,1	410.000,0	10.000,0	0,0
2	10,0	2	9	2	29,0	23,7	490.000,0	9.800,0	0,0
2	10,0	2	9	3	29,6	24,0	700.000,0	25.000,0	0,0
2	10,0	2	9	4	27,3	23,5	68.000.000,0	20.000.000,0	0,0
2	10,0	3	9	1	23,4	11,7	17.000.000,0	7.900.000,0	0,0
2	10,0	3	9	2	14,7	16,2	2.200.000,0	870.000,0	0,0
2	10,0	3	9	3	16,4	14,2	2.000.000,0	31.000.000,0	0,0
2	10,0	3	9	4	16,5	14,4	280.000.000,0	560.000,0	0,0
2	11,0	1	7	1	26,0	12,2	5.100,0	1.000,0	0,0
2	11,0	1	7	2	28,1	24,2	6.100,0	0,0	0,0
2	11,0	1	7	3	27,0	26,1	45.000,0	10,0	0,0
2	11,0	1	7	4	29,9	27,0	52.000,0	370,0	0,0
2	11,0	2	9	1	28,6	19,1	230.000,0	10,0	0,0
2	11,0	2	9	2	28,0	25,0	110.000,0	10,0	0,0
2	11,0	2	9	3	26,4	25,8	70.000,0	20,0	0,0
2	11,0	2	9	4	27,2	25,8	180.000,0	50,0	0,0
2	11,0	3	9	1	24,7	11,5	26.000,0	330,0	0,0

2	11,0	3	9	2	26,9	24,8	56.000,0	30,0	0,0
2	11,0	3	9	3	26,6	25,0	45.000,0	60,0	0,0
2	11,0	3	9	4	25,4	24,2	54.000,0	340,0	0,0
2	12,0	1	7	1	28,6	17,1	70.000.000,0	10,0	0,0
2	12,0	1	7	2	28,5	21,8	310.000.000,0	120,0	10,0
2	12,0	1	7	3	26,8	25,0	150.000.000,0	0,0	0,0
2	12,0	1	7	4	24,0	21,9	250.000.000,0	10,0	0,0
2	12,0	2	9	1	29,2	16,4	4.800.000,0	0,0	10,0
2	12,0	2	9	2	29,0	24,1	57.000.000,0	0,0	0,0
2	12,0	2	9	3	29,6	25,0	5.900.000,0	0,0	0,0
2	12,0	2	9	4	27,3	24,9	7.200.000,0	0,0	0,0
2	12,0	3	9	1	23,4	12,6	1.100.000.000,0	13.000.000,0	0,0
2	12,0	3	9	2	14,7	15,7	100.000.000,0	24.000.000,0	0,0
2	12,0	3	9	3	16,4	14,3	23.000.000,0	21.000.000,0	0,0
2	12,0	3	9	4	16,5	13,8	56.000.000,0	17.000.000,0	0,0
2	13,0	1	7	1	28,6	21,0	15.000.000,0	440,0	90,0
2	13,0	1	7	2	28,5	22,4	120.000.000,0	190,0	40,0
2	13,0	1	7	3	26,8	23,3	41.000.000,0	130,0	0,0
2	13,0	1	7	4	24,0	22,7	71.000.000,0	120,0	0,0
2	13,0	2	9	1	29,2	19,0	360.000.000,0	210,0	10,0
2	13,0	2	9	2	29,0	24,9	340.000.000,0	300,0	60,0
2	13,0	2	9	3	29,6	25,6	520.000.000,0	1.700.000,0	190,0
2	13,0	2	9	4	27,3	25,4	580.000.000,0	19.000,0	280,0
2	13,0	3	9	1	23,4	11,7	43.000.000,0	0,0	0,0
2	13,0	3	9	2	14,7	15,8	22.000.000,0	0,0	10,0
2	13,0	3	9	3	16,4	14,4	3.100.000.000,0	0,0	0,0
2	13,0	3	9	4	16,5	13,6	120.000.000,0	0,0	0,0
2	14,0	1	7	1	28,6	20,7	16.000.000,0	650,0	0,0
2	14,0	1	7	2	28,5	21,8	2.900.000,0	950,0	0,0
2	14,0	1	7	3	26,8	21,7	33.000.000,0	98,0	0,0
2	14,0	1	7	4	24,0	23,1	300.000.000,0	88,0	0,0
2	14,0	2	9	1	29,2	18,8	1.000.000,0	600.000,0	0,0
2	14,0	2	9	2	29,0	24,1	1.200.000,0	220.000,0	0,0
2	14,0	2	9	3	29,6	24,8	6.700.000.000,0	110.000,0	0,0
2	14,0	2	9	4	27,3	24,5	14.000.000,0	160.000,0	0,0
2	15,0	1	7	1	28,7	-6,6	320.000,0	3.800,0	0,0
2	15,0	1	7	2	28,0	22,6	610.000,0	28.000,0	0,0
2	15,0	1	7	3	27,4	23,6	900.000,0	14.000,0	0,0
2	15,0	1	7	4	27,5	23,0	1.800.000,0	12.000,0	0,0
2	15,0	2	7	1	26,5	-4,0	340.000,0	1.300,0	0,0
2	15,0	2	7	2	28,2	23,1	220.000,0	1.900,0	0,0
2	15,0	2	7	3	27,8	24,0	39.000,0	2.700,0	0,0
2	15,0	2	7	4	24,1	27,5	39.000,0	3.300,0	0,0
2	15,0	3	9	1	28,6	15,6	300.000.000,0	1.000,0	0,0
2	15,0	3	9	2	28,0	24,5	300.000.000,0	1.600,0	0,0
2	15,0	3	9	3	26,4	25,0	300.000.000,0	3.100,0	0,0
2	15,0	3	9	4	27,2	25,8	300.000.000,0	2.400,0	0,0
2	16,0	1	9	1	28,6	14,8	210.000,0	0,0	0,0
2	16,0	1	9	2	28,0	23,6	970.000,0	0,0	0,0
2	16,0	1	9	3	26,4	23,4	110.000,0	0,0	0,0
2	16,0	1	9	4	27,2	24,7	1.000.000,0	0,0	0,0
2	16,0	2	9	1	28,6	14,8	3.200.000,0	0,0	0,0

2	16,0	2	9	2	28,0	23,6	2.700.000,0	0,0	0,0
2	16,0	2	9	3	26,4	23,4	20.000.000,0	3.000,0	0,0
2	16,0	2	9	4	27,2	24,7	31.000.000,0	70.000,0	0,0
2	16,0	3	9	1	28,6	14,8	290.000,0	0,0	0,0
2	16,0	3	9	2	28,0	23,6	7.400.000,0	0,0	0,0
2	16,0	3	9	3	26,4	23,4	13.000.000,0	0,0	0,0
2	16,0	3	9	4	27,2	24,7	19.000.000,0	0,0	0,0
2	17,0	1	9	1	23,4	11,5	300.000.000,0	1.500,0	0,0
2	17,0	1	9	2	26,5	21,4	300.000.000,0	0,0	0,0
2	17,0	1	9	3	25,4	23,1	300.000.000,0	0,0	0,0
2	17,0	1	9	4	25,8	23,8	300.000.000,0	0,0	0,0
2	17,0	2	10	1	25,5	15,8	310.000,0	0,0	0,0
2	17,0	2	10	2	26,7	21,3	380.000,0	300.000,0	0,0
2	17,0	2	10	3	28,0	22,5	4.100.000,0	300.000,0	0,0
2	17,0	2	10	4	28,8	22,5	570.000.000,0	300.000,0	0,0
2	17,0	3	10	1	27,1	8,9	510.000,0	780,0	0,0
2	17,0	3	10	2	29,4	25,1	2.200.000,0	1.300,0	0,0
2	17,0	3	10	3	29,0	24,2	16.000.000,0	21.000,0	0,0
2	17,0	3	10	4	27,8	25,4	5.500.000,0	1.100,0	0,0
2	18,0	1	9	1	28,6	21,1	190.000.000,0	32.000,0	0,0
2	18,0	1	9	2	28,0	25,1	68.000.000,0	160.000,0	0,0
2	18,0	1	9	3	26,4	25,0	100.000.000,0	8.600.000,0	0,0
2	18,0	1	9	4	27,2	25,8	76.000.000,0	1.000,0	0,0
2	18,0	2	9	1	28,6	21,1	200.000.000,0	2.900.000,0	0,0
2	18,0	2	9	2	28,0	25,1	79.000.000,0	1.600.000,0	0,0
2	18,0	2	9	3	26,4	25,0	130.000.000,0	7.900.000,0	0,0
2	18,0	2	9	4	27,2	25,8	89.000.000,0	1.200.000,0	0,0
2	18,0	3	9	1	28,6	21,1	69.000.000,0	3.400.000,0	0,0
2	18,0	3	9	2	28,0	25,1	42.000.000,0	2.700.000,0	0,0
2	18,0	3	9	3	26,4	25,0	50.000.000,0	5.900.000,0	0,0
2	18,0	3	9	4	27,2	25,8	86.000.000,0	1.300.000,0	0,0
2	19,0	1	7	1	25,7	18,9	10.000.000,0	680,0	0,0
2	19,0	1	7	2	26,2	23,4	12.000.000,0	12.000,0	0,0
2	19,0	1	7	3	26,6	24,6	14.000.000,0	160.000,0	0,0
2	19,0	1	7	4	25,3	24,1	40.000.000,0	2.500,0	0,0
2	19,0	2	10	1	23,9	15,3	440.000.000,0	30,0	0,0
2	19,0	2	10	2	30,8	25,7	1.100.000.000,0	2.300,0	0,0
2	19,0	2	10	3	26,8	23,3	400.000.000,0	15.000,0	0,0
2	19,0	2	10	4	25,0	22,0	620.000.000,0	1.600,0	0,0
2	20,0	1	7	1	23,7	8,2	370.000,0	850,0	30,0
2	20,0	1	7	2	26,5	19,9	240.000,0	50,0	50,0
2	20,0	1	7	3	25,4	21,3	430.000,0	450,0	10,0
2	20,0	1	7	4	25,8	22,2	1.800.000,0	550,0	0,0
2	20,0	2	7	1	26,0	10,7	310.000,0	1.600,0	0,0
2	20,0	2	7	2	28,1	20,8	410.000,0	2.200,0	0,0
2	20,0	2	7	3	27,1	24,8	160.000,0	2.700,0	0,0
2	20,0	2	7	4	29,9	25,1	6.000.000,0	3.600,0	0,0
2	20,0	3	10	1	26,7	16,8	710.000,0	1.900,0	70,0
2	20,0	3	10	2	27,4	22,6	17.000.000,0	2.000,0	120,0
2	20,0	3	10	3	28,2	22,9	41.000.000,0	6.400,0	230,0
2	21,0	1	9	1	26,0	18,8	270.000.000,0	700,0	0,0
2	21,0	1	9	2	29,0	22,8	210.000,0	2.600,0	0,0

2	21,0	1	9	3	27,1	22,9	210.000,0	10,0	0,0
2	21,0	1	9	4	27,3	23,3	66.000,0	0,0	0,0
2	21,0	2	10	1	28,7	18,4	410.000.000,0	300.000,0	0,0
2	21,0	2	10	2	26,4	22,7	850.000.000,0	300.000,0	0,0
2	21,0	2	10	3	26,7	22,4	840.000.000,0	300.000,0	0,0
2	21,0	2	10	4	24,2	22,0	1.200.000.000,0	300.000,0	0,0
2	21,0	3	10	1	26,7	15,4	1.300,0	50,0	0,0
2	21,0	3	10	2	27,4	22,9	890.000,0	10,0	0,0
2	21,0	3	10	3	28,2	26,8	59.000.000,0	19.000,0	0,0
3	22,0	1	7	1	28,7	7,0	0,0	0,0	0,0
3	22,0	1	7	2	27,4	21,0	100,0	0,0	0,0
3	22,0	1	7	3	26,5	22,0	0,0	0,0	0,0
3	22,0	1	7	4	26,5	21,7	0,0	0,0	0,0
3	22,0	1	7	5	24,5	21,2	0,0	0,0	0,0
3	22,0	1	7	6	22,9	21,8	0,0	24.000.000.000,0	0,0
3	24,0	1	7	1	25,7	11,3	30.000.000,0	0,0	0,0
3	24,0	1	7	2	26,2	20,2	30.000.000,0	0,0	0,0
3	24,0	1	7	3	26,6	21,6	30.000.000,0	0,0	0,0
3	24,0	1	7	4	25,3	20,7	240.000,0	0,0	0,0
3	24,0	1	7	5	21,6	19,0	9.100,0	0,0	0,0
3	24,0	1	7	6	20,5	18,0	30.000.000,0	0,0	0,0
3	24,0	2	7	1	28,7	7,3	0,0	0,0	0,0
3	24,0	2	7	2	27,4	21,6	1.200.000.000,0	1.100,0	0,0
3	24,0	2	7	3	26,5	21,1	320.000.000,0	8.600,0	0,0
3	24,0	2	7	4	26,5	21,7	16.000.000.000,0	410,0	0,0
3	24,0	2	7	5	24,5	22,3	20.000,0	0,0	0,0
3	24,0	2	7	6	22,9	21,3	6.700.000.000,0	0,0	0,0
3	24,0	3	10	1	21,5	12,8	110.000.000.000,0	30.000.000,0	0,0
3	24,0	3	10	2	23,5	22,6	90.000.000.000,0	30.000.000,0	0,0
3	24,0	3	10	3	22,2	22,9	50.000.000.000,0	15.000.000,0	0,0
3	24,0	3	10	4	24,6	23,0	4.500.000,0	9.000.000,0	0,0
3	24,0	3	10	5	24,1	21,8	16.000.000.000,0	250.000.000,0	0,0
3	24,0	3	10	6	24,0	21,9	290.000.000.000,0	190.000.000,0	0,0
3	25,0	1	7	1	28,7	1,4	30.000.000,0	10.000,0	0,0
3	25,0	1	7	2	27,4	19,0	30.000.000,0	0,0	0,0
3	25,0	1	7	3	26,5	20,7	30.000.000,0	20.000,0	0,0
3	25,0	1	7	4	26,5	22,4	30.000.000,0	160.000,0	0,0
3	25,0	1	7	5	24,5	21,6	30.000.000,0	200.000,0	0,0
3	25,0	1	7	6	22,9	20,9	30.000.000,0	130.000,0	0,0
3	25,0	2	7	1	26,5	26,5	30.000.000,0	300.000,0	0,0
3	25,0	2	7	2	27,0	27,0	30.000.000,0	300.000,0	0,0
3	25,0	2	7	3	28,1	28,1	30.000.000,0	300.000,0	0,0
3	25,0	2	7	4	25,4	25,4	30.000.000,0	300.000,0	0,0
3	25,0	2	7	5	28,5	28,5	30.000.000,0	300.000,0	0,0
3	25,0	2	7	6	23,9	23,9	30.000.000,0	300.000,0	0,0
3	25,0	3	10	1	21,5	21,5	30.000.000.000,0	4.200.000,0	0,0
3	25,0	3	10	2	23,5	23,5	30.000.000.000,0	0,0	0,0
3	25,0	3	10	3	22,2	22,2	30.000.000.000,0	0,0	0,0
3	25,0	3	10	4	24,6	24,6	30.000.000.000,0	6.000.000,0	0,0
3	25,0	3	10	5	24,1	24,1	30.000.000.000,0	0,0	0,0
3	25,0	3	10	6	24,0	24,0	30.000.000.000,0	0,0	0,0
3	23,0	1	7	1	26,5	16,9	0,0	0,0	0,0

3	23,0	1	7	2	27,0	21,7	0,0	0,0	0,0
3	23,0	1	7	3	28,1	22,8	0,0	0,0	0,0
3	23,0	1	7	4	25,4	23,1	0,0	0,0	0,0
3	23,0	1	7	5	28,5	19,9	0,0	0,0	0,0
3	23,0	1	7	6	23,9	20,6	0,0	0,0	0,0
3	26,0	1	7	1	25,7	22,1	6.800,0	500,0	0,0
3	26,0	1	7	2	26,2	21,7	6.500,0	3.100,0	0,0
3	26,0	1	7	3	26,6	21,3	10.000,0	10,0	0,0
3	26,0	1	7	4	25,3	21,0	66.000.000,0	300,0	0,0
3	26,0	1	7	5	21,6	19,0	34.000.000,0	210,0	0,0
3	26,0	1	7	6	20,5	18,3	110.000.000,0	3.000,0	0,0
3	26,0	2	10	1	21,5	16,6	1.700.000,0	3.000.000,0	0,0
3	26,0	2	10	2	23,5	22,5	34.000.000,0	3.000.000,0	0,0
3	26,0	2	10	3	22,2	23,3	380.000.000,0	3.000.000,0	0,0
3	26,0	2	10	4	24,6	22,5	21.000,0	3.000.000,0	0,0
3	26,0	2	10	5	24,1	22,3	9.800.000,0	3.000.000,0	0,0
3	26,0	2	10	6	24,0	22,1	1.900.000.000,0	3.000.000,0	0,0
3	27,0	1	7	1	26,5	14,0	430.000.000,0	66.000,0	0,0
3	27,0	1	7	2	27,0	22,4	24.000.000,0	210.000,0	0,0
3	27,0	1	7	3	28,1	24,5	16.000.000,0	230.000,0	0,0
3	27,0	1	7	4	25,4	26,0	30.000.000.000,0	230.000,0	0,0
3	27,0	2	7	1	26,0	16,5	16.000,0	730.000,0	0,0
3	27,0	2	7	2	28,1	23,8	700,0	93.000.000,0	0,0
3	27,0	2	7	3	27,1	24,9	5.300,0	4.000.000,0	0,0
3	27,0	2	7	4	29,9	26,5	30.000,0	890.000,0	0,0
3	27,0	3	7	1	28,6	25,1	590,0	810.000,0	0,0
3	27,0	3	7	2	28,0	25,3	2.000,0	5.000.000,0	0,0
3	27,0	3	7	3	26,4	24,9	5.600,0	4.800.000,0	0,0
3	27,0	3	7	4	27,2	25,3	130.000,0	3.600.000,0	0,0
3	27,0	4	7	1	28,6	25,1	1.700,0	39.000,0	0,0
3	27,0	4	7	2	28,0	25,3	3.000,0	4.200.000,0	0,0
3	27,0	4	7	3	26,4	24,9	2.900,0	3.800.000,0	0,0
3	27,0	4	7	4	27,2	25,3	23.000,0	46.000.000,0	0,0